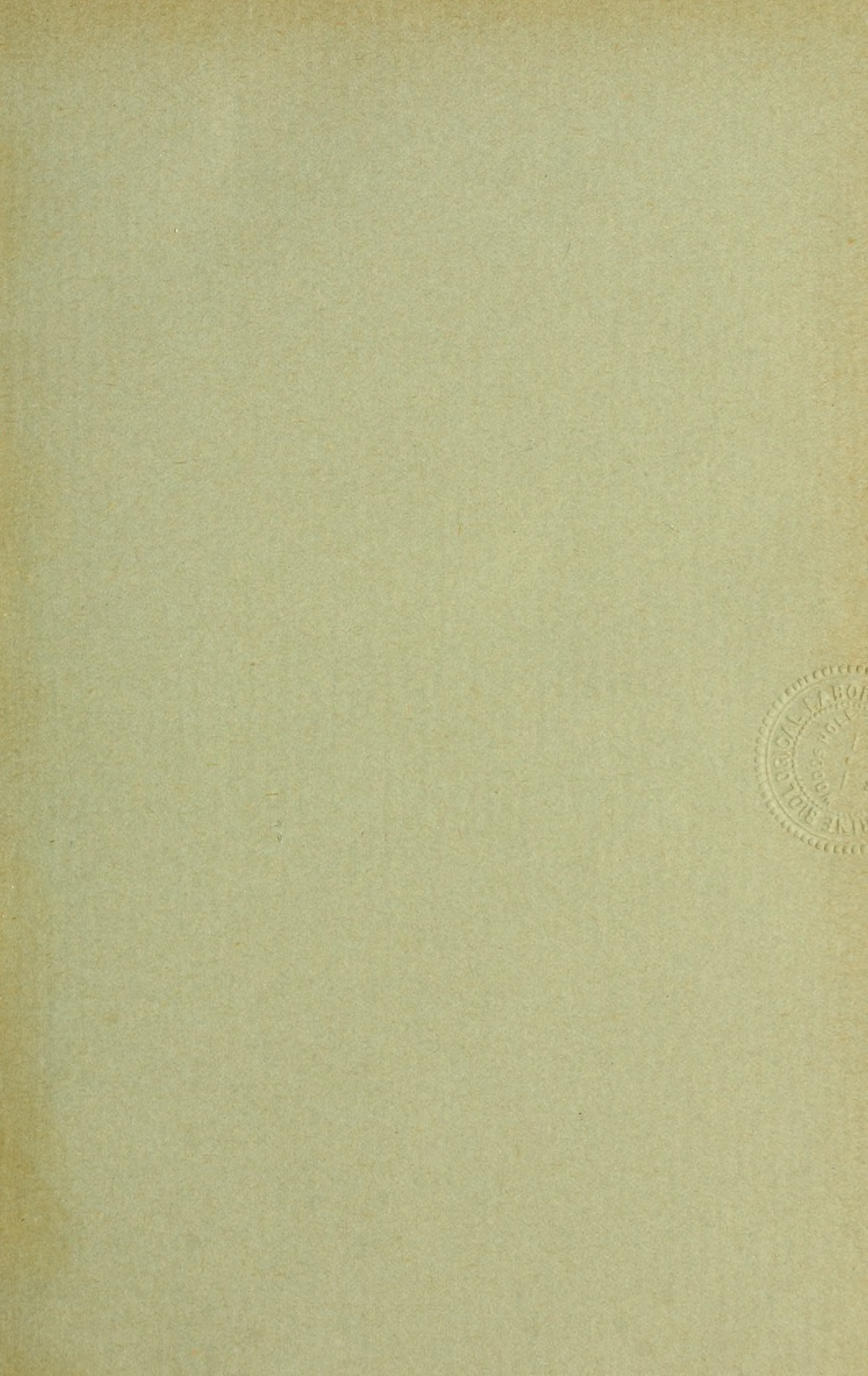
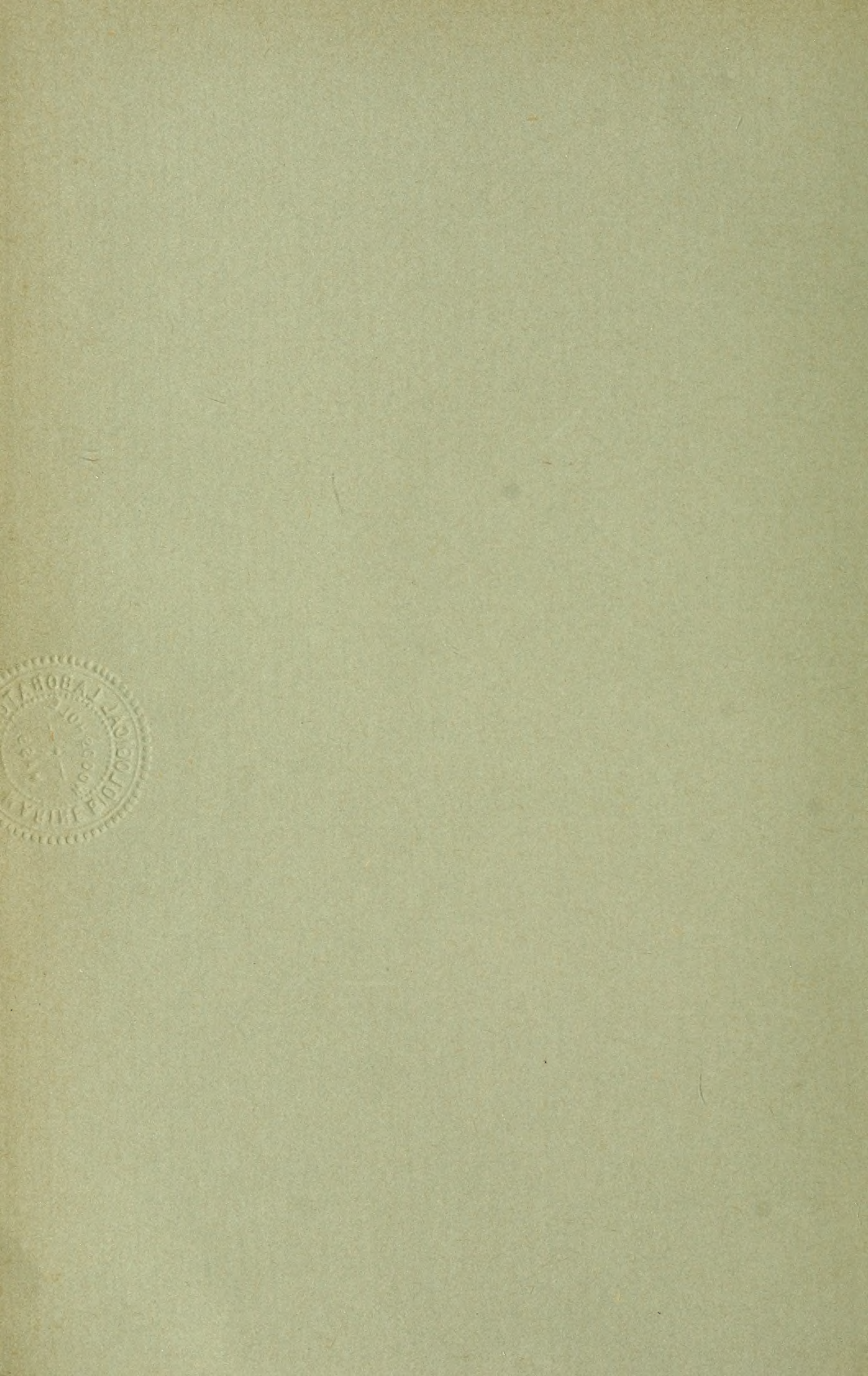




JUNTA PARA AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

TRABAJOS DEL MUSEO NACIONAL DE CIENCIAS NATURALES

SERIE ZOOLÓGICA, NÚM. 24.

LA ESTRUCTURA DEL TESTÍCULO del *PLEURODELES WALTLI* Mich.

POR

MARIO GARCÍA BANÚS

(Se ha publicado este Trabajo en 15 de Febrero)

MADRID
1916

Imp. Clásica Española, Cardenal Cisneros, 10. Teléfono 4430.—Madrid

SUMARIO

INTRODUCCIÓN

El *Pleurodeles Waltli* Mich., conocido vulgarmente con el nombre de *gallipato*, es una especie de la fauna española casi exclusivamente.

Se encuentra solamente en el NO., O. y S. de España, en Portugal y N. de Marruecos (Boscá, 1877 *b* y 98, y López Seoane, 1877); su área de dispersión está limitada al N. y E. por una línea que, según Schreiber (1913), penetra en la península por Galicia (Ferrol), se dirige hacia el SE., y, pasando un poco al N. de Madrid, viene a salir por Cartagena.

Debido tal vez a esta distribución limitada, es esta una especie casi desconocida científicamente. Fuera de los trabajos de descriptiva, apenas si se encuentran autores que se hayan ocupado de ella (1).

Creo es deber nuestro ocuparnos, ante todo, del conocimiento más completo de las especies características de nuestra fauna. Esto fué lo que me movió a emprender el estudio de la espermatogénesis del *Pleurodeles;* pero al empezar dicho trabajo encontré algunas particularidades en la anatomía microscópica del testículo, completamente desconocida en esta especie, que lo ha-

---

(1) No conozco acerca de esta especie más que los siguientes trabajos: la monografía de Fraisse (1880), uno de Wiedersheim acerca del esqueleto; una nota de Boscá (1877 *a*) sobre su cópula, y los trabajos de Gogorza (1909 y 1910) acerca de la piel y sus glándulas. Acerca de órganos sexuales sólo existe la descripción del espermatozoide por Retzius (1906).

cían diferir algo de las descripciones dadas por los autores, para el testículo de otros Urodelos; el estudio de dicha anatomía es lo que constituye el presente trabajo, que es casi exclusivamente descriptivo, y del que, por tanto, han de ser pocas las consecuencias importantes que resulten, por carecer, además, de autoridad suficiente para formularlas.

He procurado resolver en el *Pleurodeles* algunos de los problemas pendientes de discusión del testículo de otros Urodelos; entre ellos, la constitución macroscópica del testículo, formado de partes distintas, y la variación de dichas partes según la época del año; esto, con el estudio de la manera de regeneración de nuevas porciones, constituye la primera mitad del trabajo.

En la segunda parte me ocupo del estudio de los elementos accesorios, con objeto de poder llegar a dar cuenta exacta del origen de una región del testículo de los Urodelos, poco estudiada hasta ahora, y que en esta especie tiene una gran importancia: la región glandular, cuya estructura he estudiado en detalle; también he dado cabida al estudio de la distribución del tejido conjuntivo.

He dejado el estudio de las células sexuales para un trabajo ulterior, pudiendo considerarse el presente, como una introducción al estudio de la espermatogénesis. He colocado un resumen después de cada una de las partes, y al final un resumen general con los resultados más salientes.

No quiero dejar de hacer constar mi agradecimiento a cuantas personas me han ayudado dealgún modo en la realización de este trabajo. Entre ellas, no puedo menos de citar a los doctores Simarro y Cajal, por los consejos con que en distintas ocasiones me han favorecido; al Dr. Achúcarro, a quien debo la idea de emplear su hermoso método del tanino y plata amoniacal, y la práctica de dicho método, y especialmente, al Director del Museo Nacional de Ciencias Naturales, Dr. Ignacio Bolívar, por las muchas facilidades y abundante material que me ha procurado para llevar a termino este trabajo.

A.—EL TESTÍCULO DE OTROS URODELOS

Casi todos los autores que se han ocupado en el estudio de la espermatogénesis, o de la anatomía del testículo de los Urodelos, han hecho notar que está formado de partes distintas, y que estas partes varían con la época del año en que se estudiase.

Ya Leydig (1850) reconoce dichas partes en el testículo de *Salamandra*, y las distingue por su color y contenido diciendo: «El color de las distintas partes varía entre blanco, gris y amarillo de azufre, lo que depende del contenido de los *tubos del testículo.* En los cortos tubos del testículo, contenidos en los *lóbulos* grises, y cuyos extremos redondeados miden de 0,034 a 0,05 mm. de ancho, no se encuentran espermatozoides, sino que están llenos de grandes células de 0,012 mm. de diámetro. El contenido de las células es turbio, finamente granuloso, y su núcleo tiene numerosos nucleolos. En las células de la parte de color amarillo de azufre hay depositadas gruesas gotas de grasa, y solamente en la parte blanca, se encuentran los hermosos espermatozoides ya conocidos, provistos de su membrana ondulante» (1).

Vemos que habla de tubos del testículo, aunque, como pos-

(1) Citado por Nussbaum (1906).

teriormente otros autores han demostrado, no existen tales tubos en los Urodelos. Describe también un filamento que, dirigiéndose hacia adelante, se une en la línea media, a la altura del estómago, con el que sale del testículo del otro lado; corresponde esto con lo que se ha llamado después cordón anterior, o lacinia pulmonar, si bien no hay unión alguna entre las de ambos testículos.

Flemming (1888) y Hermann (1889) también distinguen varias partes que llaman lóbulos; uno anterior, donde no hay espermatozoides, zona de regeneración, y otras partes blancas que contienen espermatozoides maduros, o casi maduros. Hablan también de canales o tubos seminíferos; suponen, con Belloncì (1886), que se forman en la zona anterior, a expensas de una de las células grandes con núcleo lobado que allí se encuentran, elementos indiferentes que, por división, producen un cordón macizo de espermatogonias, envueltas cada una por su cubierta de células foliculares; posteriormente se produce en el centro del cordón macizo un espacio, quedando transformado en un tubo; cada espermatogonia produce un *espermatocisto*, o grupo de células procedentes por división de aquélla, y envueltas por células foliculares, en el interior de cuyo protoplasma se transforman en espermatozoides; las células foliculares son iguales, según Hermann, a los *espermatoblastos*, o células de Sertoli del ratón.

Nicolás (1892), estudiando las espermatogonias de *Salamandra*, describe el testículo, en los meses de enero a abril, como formado generalmente por dos *lóbulos* a cada lado, piriformes y unidos por un cordón que llama *cordón intermediario*. Cada lóbulo consta de dos *segmentos*, uno más voluminoso, situado en el lado cefálico de cada *lóbulo;* el del *lóbulo* anterior se adelgaza, y termina por lo que él llama *cordón proximal;* el del *lóbulo* posterior se continúa anteriormente con el *cordón intermediario*. La coloración de este segmento es blanca mate; el otro segmento está situado posteriormente al ya descrito, y separado de él por una estrangulación; en el lóbulo anterior se continúa

hacia la cola por el *cordón intermediario*, mientras el del lóbulo posterior se adelgaza y termina por el *cordón distal*. Este segmento posterior de cada lóbulo es gris claro, ligeramente amarillento, y encierra *espermatocistos* en distintos estados, mientras que el anterior, blanco, de cada lóbulo encierra espermatozoides maduros, o casi maduros. Solamente en los cordones distal, proximal e intermediario se encuentran las espermatogonias con sus células foliculares.

Flemming, Hermann y Nicolas no parecen conocer la parte amarilla descrita por Leydig, probablemente por no existir en la época en que hicieron el estudio; aplica Nicolas la palabra lóbulo a partes del testículo de distinta categoría de aquellas designadas por Leydig, Flemming y Hermann con dicho nombre, llamando a éstas *segmentos*, mientras llama *lóbulos* a partes del testículo formadas de *segmentos* de distinta composición y repetidos análogamente de unos a otros. En cambio, parece haberse equivocado en el orden de colocación de los segmentos, pues veremos que todos los demás autores están conformes en una distribución inversa, describiendo los segmentos anteriores como conteniendo células en evolución, y los posteriores espermatozoides formados.

Vom Rath (1894) describe también el testículo de *Salamandra*, como formado de varios lóbulos unidos por *cordones de tejido conjuntivo* y constituídos por segmentos distintos; en los anteriores se encuentran las células grandes de núcleo polimorfo, separadas por células foliculares *(Randzellen)* y en los segmentos posteriores, de color blanco o blanco amarillento, se encuentran *tubos seminíferos*, formados por tejido conjuntivo y conteniendo *Randzellen* y espermatozoides.

Meves (1897) emplea la palabra lóbulos *(Lappen)* en el mismo sentido que Leydig, designando con ello partes del testículo, de distinta naturaleza. Describe un testículo de *Salamandra*, de julio-agosto (1897, fig. 1.ª), que consta de un lóbulo grande gris y uno o dos blanquecinos posteriormente; de su extremo anterior

sale, dirigiéndose hacia la cabeza una lacinia *(Zipfel)* grisácea, y del posterior otra análoga, marcadamente distinta del último lóbulo. Los lóbulos blancos encierran espermatozoos, en el anterior gris están contenidas las células que los forman, que en esta época están en activa multiplicación. En la lacinia anterior se encuentran grandes células rodeadas de conjuntivo, mientras que en la lacinia posterior se encuentran las mismas células con un conjuntivo más abundante.

Describe las células sexuales como envueltas por células foliculares y dispuestas en *nidos (Nestern)*, rodeados de tejido conjuntivo, y posteriormente en *cistos* con pared conjuntiva y una cavidad en el centro. Niega la existencia de tubos seminíferos. Tampoco describe la parte amarilla de LEYDIG.

JANSSENS (1901), al estudiar la espermatogénesis en el género *Triton*, no se ocupa de la disposición de las distintas partes del testículo.

NUSSBAUM (1905-06) estudia la variación de las distintas partes del testículo, según las épocas del año, en *Triton alpestris* y *cristatus* y *Salamandra*. Emplea la palabra *lóbulo* como NICOLÁS, haciendo notar la diferencia entre *lóbulo* y *segmento* o región.

Según él, el testículo de *Triton alpestris* no posee generalmente más que un lóbulo único, en el que se distinguen, antes de marzo, dos partes, una blanca amarillenta, conteniendo grandes *ampollas* con espermatozoides formados, y un pequeño escudo o espejo, gris transparente, que se prolonga en una *lacinia pulmonar* y contiene vesículas pequeñas con espermatogonias y espermatocitos; en la lacinia se encuentran espermatogonias grandes con núcleo polimorfo.

De abril a mayo empiezan a vaciarse las vesículas de espermatozoides, contenidas en la parte blanca, quedando formado el testículo por tres partes: el *espejo* con su lacinia, la parte blanca disminuída y una parte formada por las vesículas que se han vaciado.

A fin de mayo ya no existe la región blanca; entonces se destacan vesículas de la parte gris hacia la zona de vesículas vacías, que *desaparece completamente* por reabsorción antes del mes de junio. Posteriormente sólo consta de lacinia, espejo y las vesículas nuevas, que encierran espermatozoides en formación, siendo todo ello translúcido, no apareciendo vesículas con espermatozoides maduros (parte blanca) hasta poco antes del celo.

En *Triton cristatus* puede haber 2 ó 3 lóbulos unidos en rosario, a veces dos en un lado y tres en el otro. En marzo, cada lóbulo tiene dos partes: una gris translúcida y una blanca brillante, y lacinias pulmonar y caudal. La parte gris translúcida aumenta de tamaño, mientras la parte blanca disminuye, por vaciarse las vesículas de espermatozoides que contiene; entonces consta de tres partes: la gris translúcida, la blanca, mientras no se ha vaciado por completo, y la formada por las vesículas vacías, que ya en mayo empieza a acumular grasa, tomando color amarillo. Esta zona amarilla se transforma en un cordón ancho y desaparece completamente a fin de julio. A últimos de agosto empieza la zona gris a tomar color blanco por el borde posterior, por contener ya espermatozoides maduros en sus vesículas. Cita el caso de un testículo con zona de espermatozoides en ambos extremos, cefálico y caudal.

En *Salamandra* puede haber uno, dos o tres lóbulos. Posee lacinias pulmonar y caudal, una zona gris y una o dos blancas; esta duplicación de la zona blanca, que fué ya notada por Flemming, hace una excepción de la *Salamandra* entre los demás Urodelos. En septiembre, la segunda parte blanca se había transformado en una zona de ampollas vacías, con color amarillo. En la primavera siguiente, los testículos de algunos ejemplares de *Salamandra*, que habían permanecido durante el invierno en un acuario en el laboratorio, estaban formados de tres partes: la parte gris translúcida, la parte blanca brillante y la amarilla; cree Nussbaum que esta conservación de la zona amarilla de vesículas vacías durante el invierno no es normal, sino debida a las malas

condiciones de vida, a una cautividad prolongada, y que en la naturaleza debe de ocurrir de modo diferente.

Según CHAMPY (1913), el testículo de los Urodelos puede estar formado de varios lóbulos (emplea esta palabra en el mismo sentido que NUSSBAUM y NICOLÁS), cuyo número varía con la especie. En *Salamandra* hay uno (1), en los *Triton* hasta cuatro y en axolote hasta seis. Cada lóbulo está formado, durante e invierno, por dos partes, una zona de gonias y otra constituída por cistos con espermatozoides maduros. En *Triton*, los cistos con espermatogonias pueden estar mezclados con los de espermatozoides o existir una zona de espermatogonias con una de espermatozoides a cada lado.

En el momento de la cópula, los cistos de espermatozoides maduros que se han vaciado sufren una modificación, formando las células de sus paredes un tejido glandular análogo al tejido glandular intersticial de los anuros; no hay nada que pueda compararse con tejido intersticial antes de la cópula, y este tejido desaparece muy pronto, siendo sólo transitorio.

Por último, SNOOK y LONG (1914), en *Aneides lugubris*, que es un urodelo norteamericano, indican también que el testículo, en invierno está formado de varios lóbulos y que en cada uno hay una parte anterior con espermatogonias en distintas fases de evolución, y otra posterior con espermatozoides maduros.

En lo que se refiere a la anatomía microscópica, todos los autores están conformes, en contra a lo dicho por LEYDIG, FLEMMING y HERMANN, en negar la existencia de tubos seminíferos.

Según MEVES, en la lacinia pulmonar se encuentran espermatogonias envueltas en las células *foliculares* de von LA VALETTE SAINT-GEORGE (1875), que vom RATH llamó *Randzellen*, y rodea-

(1) No está conforme esto, como vemos, con las descripciones de NUSSBAUM (2 ó 3), ni de NICOLÁS (generalmente dos), ni con mi observación personal, pues el único ejemplar de *Salamandra* que he estudiado peosía dos lóbulos en el testículo de cada lado.

das de abundante conjuntivo; por división se producen durante un cierto tiempo células, cada una de ellas envuelta por una cubierta formada de células foliculares; por divisiones repetidas empiezan a formarse grupos de células en la base de la lacinia, agrupadas en *nidos* separados unos de otros por fuertes cubiertas conjuntivas; pronto se forma una cavidad en el centro del nido. Posteriormente cada célula se divide un cierto número de veces en el interior de su folículo propio, sin que las células hijas adquieran cubierta particular, quedando todas rodeadas por la cubierta de la célula madre; así se forman los *espermatocistos;* un cierto número de estos *espermatocistos* se encuentran reunidos en un cisto de fuertes paredes conjuntivas y con una cavidad en el centro; el conjunto de estas vesículas forma la parte inferior del gran *lóbulo* (segmento) gris; el *lóbulo* (segmento) blanco contiene espermatozoides dispuestos también en vesículas. No se puede hablar, pues, de tubos seminíferos.

Nussbaum sustituye la palabra cistos, de Meves, por la de *ampollas*, pues no son cerradas completamente, como parece deducirse de la descripción de éste, sino que cada una está en comunicación con un canalículo deferente, siendo realmente como una ampolla producida en el extremo de un tubo; contienen las espermatogonias, envueltas cada una en un folículo, y después un grupo de células en el mismo folículo, conforme a la descripción de Meves; en cada ampolla quedan algunas espermatogonias que no evolucionan, al lado de la entrada de canalículo seminífero y dentro de la ampolla, a las que llama *Restspermatogonien* (espermatogonias residuales). Al vaciarse la ampolla con espermatozoides maduros, quedan las espermatogonias residuales en el interior de aquéllas; entonces las *células foliculares* se cargan de grasa y forman lo que él llama tejido de *degeneración*, que compara con los cuerpos amarillos del ovario (1905-1906), el cual es transitorio y pronto desaparece, quedando entonces las espermatogonias residuales, que pueden regenerar un nuevo lóbulo del testículo; hay, pues, según Nussbaum, dos zonas de re-

generación en el testículo de los Urodelos: una en la lacinia pulmonar, comparable al repliegue germinativo de los Selacios; y otra, representada por las *Restspermatogonien*, capaces de producir nuevos lóbulos.

Champy vuelve a la idea de Meves, suponiendo cistos completamente cerrados formados por tejido conjuntivo; al principio cada célula está envuelta en una cubierta propia; por división se forman grupos de varias células envuelto cada uno en la cubierta, *cisto*, de la célula madre; posteriormente, al aumentar el número de células sexuales, se introducen las que forman el cisto entre ellas y las separan, formando un cierto número de cistos secundarios, envueltos todos en el cisto grande de primer orden; no se debe hablar de *células foliculares*, pues todas las células que forman los cistos, tanto los primarios como los secundarios, como las que se encuentran entre ellos, *son iguales*, y *todas de tejido conjuntivo;* si hay alguna diferencia en las que envuelven las células sexuales, es debida al contacto inmediato de éstas.

Al producirse los espermatozoides, desaparecen los cistos de segundo orden, quedando entonces sólo los de primer orden, y las células que los formaban se disponen sobre su pared formando a modo de un epitelio que la reviste interiormente; entonces toman el papel de las células de Sertoli del testículo de los mamíferos, sirviendo de sostén y alimento a los espermatozoides, cuyas cabezas quedan insertas en su protoplasma.

Los espermatozoides que se forman a fines de verano, pasan el invierno en esta disposición hasta la primavera siguiente, eu que son empleados. Poco antes de su expulsión, se ponen en relación los canalículos deferentes con los cistos de espermatozoides por un mecanismo desconocido para el autor: *probablemente por una especie de gemación de aquéllos*. Cuando son expulsados los espermatozoides, el tejido *sertoliano*, que los había alimentado, se encarga de fagocitar a los que quedan aún en el cisto. Entonces las células que forman los cistos, y las que se encuentran entre ellos, sufren una modificación, cargándose de grasa y for-

mando un tejido que llama glandular, y compara con el tejido intersticial del testículo de los anuros y con los cuerpos amarillos del ovario de los mamíferos, (considerado también modernamente como glándula intersticial), teniendo el carácter de una glándula de secreción interna, que serviría para acumular alimento para las células sexuales, al mismo tiempo que produce una secreción que ejerce influencia sobre los caracteres sexuales externos. Este tejido, que supone CHAMPY no fué visto antes que por él más que por PÉREZ (1904), aunque ya hemos dicho que lo conocía LEYDIG (1850) y que NUSSBAUM (1905-1906) le da la misma significación que él, es tan sólo transitorio, *desapareciendo completamente* al formarse los nuevos espermatozoides. Los cistos de primer orden de CHAMPY, deben de ser homólogos de las vesículas o cistos de MEVES y de las ampollas de NUSSBAUM; y los cistos de segundo orden, al parecer, aunque describe su origen de un modo muy distinto, serían los folículos de dichos autores.

Respecto a la regeneración, niega la segunda manera de producirse ésta, descrita por NUSSBAUM en *Salamandra* y *Triton*, a expensas de las *Restspermatogonien;* éstas, cuando existen, no se encuentran en el interior de los cistos, sino entre éstos, y no sirven para la regeneración; sólo se produce ésta, según CHAMPY, a expensas de la zona generativa anterior, que da origen a la lacinia pulmonar.

B.—MATERIAL Y MÉTODOS

El *Pleurodeles* es muy abundante en los alrededores de Madrid, en charcas y estanques, por lo que he podido disponer de gran cantidad de ejemplares.

Los gallipatos han sido muertos inmediatamente a su captura, para evitar en lo posible las causas de degeneración que pudieran desvirtuar los resultados. Para la parte de la evolución del testículo he trabajado con gallipatos capturados en casi todos los meses y en distintos años.

Todos los ejemplares con que he trabajado eran adultos, de mayor o menor tamaño; muchos con los callos braquiales negros.

Para la fijación se separaban los testículos con los cuerpos amarillos, que hacen que floten en el fijador, siendo más eficaz la acción de éste; solamente cuando se emplea licor de Flemming, es conveniente separar la grasa, por reducir ésta gran cantidad de ácido ósmico, que disminuye la fuerza del fijador.

Los dibujos esquemáticos de las figuras intercaladas en la primera parte del texto, fueron hechos con la cámara clara sobre los testículos en fresco o ya fijados; solamente algunos, como se indica en su descripción, fueron dibujados cuando se encontraban en xilol para la inclusión.

He empleado diversos fijadores, con distintos resultados; los

que mejor lo han dado han sido: el licor de FLEMMING, solución fuerte, y el de ZENKER, este último disminuyendo algo la cantidad de sublimado que se añade al líquido de MÜLLER para formarlo; aun así, y a pesar de pasar las piezas por alcohol de 95 por 100 iodado, teniéndolas en él más de un día, no se puede evitar que se formen cristales de sublimado entre las células de la región glandular. Esta parte, que parece tener una especial afinidad por el sublimado, impide que se puedan obtener preparaciones elegantes, fijando con líquidos en los que intervenga dicho reactivo en mayor o menor cantidad, pues siempre aparece precipitado, a pesar, como digo, de mantener las piezas durante varios días en alcohol iodado.

He empleado varios fijadores a base de sublimado, entre ellos el de LENHOSSEK, en frío, que contrae mucho los tejidos, y con el cual la formación de cristales, indicada más arriba, tiene lugar con mucha intensidad.

Mejor resultado me ha dado la mezcla siguiente:

Solución saturada de sublimado	85 c. c.
Formol al 40 por 100................	10 »
Acido acético glacial................	5 »

modificación de la recomendada por BÖHM und OPPEL, como muy buena, para la coloración con anilinas.

El fijador de GILSON, a base de ácido nítrico y sublimado, no me ha dado buenos resultados, pues destroza por completo las células periféricas, por su acción demasiado enérgica.

El licor de BOUIN me ha dado muy buenos resultados en lo que se refiere a la fijación de la cromatina; pero el protoplasma, en muchos casos, dejaba bastante que desear.

Para el método de ACHÚCARRO he fijado numerosas piezas en formol, en soluciones concentradas, al 20-25 por 100, obteniendo bien conservado el protoplasma, aunque el núcleo no presenta aspecto elegante.

He empleado diversos métodos de coloración, de acorde con el fijador y las estructuras que deseaba estudiar.

En los testículos fijados en líquidos de FLEMMING y de ZENKER he empleado, con buen resultado, la hematoxilina ferruginosa de HEIDENHAIN, bien sola o acompañada como coloración de fondo por naranja G. Da muy buenos resultados en las piezas fijadas por estos fijadores el método de la *Safranina Lichtgrün*, empleado por WILSON (1909) para el estudio de los cromosomas. Lo he empleado de la siguiente manera:

Safranina, fórmula ZWAARDEMAKER (1)...........	12-24 horas.
Solución de *Lichtgrün* 1 por 100 en alcohol 95 por 100.................................	1-3 minutos.

Lavado en alcohol de 95 por 100, absoluto, xilol y bálsamo.

En las preparaciones de testículos fijados por mezclas a base de sublimado he empleado la hematoxilina de HEIDENHAIN, sola o seguida de naranja G., eosina o fuchsina, o precedida de *Lichtgrün*. Me ha dado muy buen resultado la mezcla triácida EHRLICH-BIONDI-HEIDENHAIN *(Encyclopedie der Mikroskopischen Technik)*, empleada de la siguiente manera: Se colorean los cortes durante veinticuatro horas en la mezcla

Solución acuosa de fuchsina ácida 1 por 100..	6 c. c.
» » de verde metilo 1 por 100...	6 »
» » de naranja G. 1 por 100.....	8 »
Agua destilada..........................	40 »

Lavado ligero en agua y diferenciación en alcohol de 95 por 100, al que se añade $^1/_2$ c. c. de ácido acético por 100; alcohol limpio, absoluto, etc.

(1) La fórmula de la safranina ZWAARDEMAKER es la siguiente:

Safranina, solución alcohólica saturada......	50 c. c.
Agua anilinada............................	50 »

Los testículos fijados en licor de BOUIN los he coloreado por la hematoxilina de hierro y por el método de PRENANT.

Para el estudio del tejido conjuntivo me he servido de las preparaciones coloreadas por el método de PRENANT, o en otras sustituyendo el *Lichtgrün* por el azul de Lyon, que lo colorea intensamente; pero, especialmente, da el conectivo con gran selección el método de ACHÚCARRO (1911), empleado por el autor para el estudio de la neuroglia, y que da brillantes preparaciones de fibrillas conjuntivas. Lo he empleado en piezas fijadas en formol, cortadas por congelación o incluídas en parafina; en ambos casos con buen resultado.

En todos los casos he cortado los testículos longitudinalmente, para poder tener idea del conjunto; y para todos los métodos, menos el de ACHÚCARRO, he empleado los cortes fijados al porta por la albúmina glicerinada.

C.—EL TESTICULO DEL GALLIPATO

Se encuentran situados, conforme con los de todos los anfibios, en la cavidad general del cuerpo, a la altura de los riñones, uno a cada lado de la columna vertebral, y pendiendo del techo de aquélla por un repliegue del peritoneo, el *mesorchium*, formado por dos hojas entre las que penetran venas y arterias y salen los conductos deferentes; hay unido a cada uno de los testículos un cuerpo adiposo, amarillo, grande, que lo recubre casi por completo.

El testículo de cada lado está formado, en general, por partes, o *lóbulos* de igual naturaleza, formados a su vez, cada uno, de segmentos o *regiones*, desemejantes, y que se repiten de un modo análogo de uno a otro lóbulo.

Los lóbulos están unidos, cuando hay varios, a modo de rosario, por cordones finos, *cordones de unión;* la forma de cada lóbulo es fusiforme irregular; el más anterior, o el único, si no hay más que uno, se prolonga generalmente hacia la cabeza por un cordón fino que se apoya sobre el pulmón, del cual es a veces difícil separarlo; es la llamada por los autores *lacinia pulmonar;* el último puede ir provisto de una *lacinia caudal* o *cloacal.*

La forma, tamaño, composición y aspecto de las distintas partes del testículo, varía considerablemente, según las épocas del año; estudiamos a continuación dichas variaciones con sus causas.

PRIMERA PARTE

Evolución anual del testículo

1.° — Forma y aspecto externo

Testículos de invierno

Testículo de 25 de noviembre (fig. A).— Consta de dos lóbulos unidos por un cordón intermedio (1); la lacinia posterior es muy corta; la anterior ha debido ser cortada al separar el testículo, habiendo señales del arranque de ella. El lóbulo anterior consta de las siguientes partes: una translúcida (*b*) de forma cónica, redondeada inferiormente; una segunda parte blanca (*c*), *brillante, opaca*, grande, casi esférica, con reticulación muy marcada en la superficie, y los espacios que deja el retículo, salientes, abultados; está separada de la parte anterior por una depresión transversa, muy marcada, que en la parte dorsal es más ancha. En esta segunda región abundan los vasos sanguíneos superficiales formando una red de vasos mayores, dispuestos longitudinalmente, y un sistema de otros menores que forman mallas poliédricas; en la depresión de separación con la región anterior, se

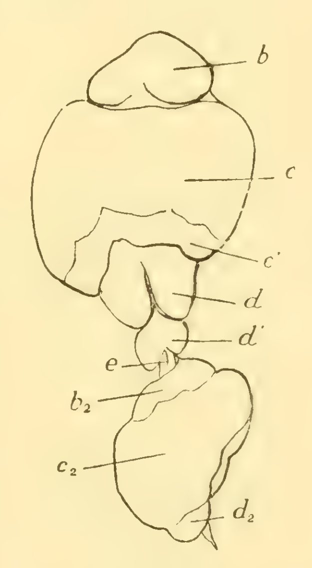


Fig. A.
Testículo de 25 de noviembre; aspecto externo, dibujado por el lado ventral. × 5.

(1) El ejemplar representado en la figura ha sido dibujado cuando estaba en xilol, dispuesto para ser incluído; debe haber sufrido, por tanto, algo de contracción. El aumento de estas figuras es solamente aproximado.

encuentran los vasos sanguíneos en mayor número, destacándose esta parte como una banda de tono rojizo.

Sigue a la región blanca una intermedia (c') de color amarillo blanquecino, cuya superficie conserva la reticulación todavía bien marcada. Sólo se distingue de la anterior por el color, pues la separación entre ambas no es clara, habiendo tránsito insensible de una a otra, penetrando la coloración amarillenta por entre las mallas del retículo de la región blanca.

La región 3.ª (d) es de color amarillo de azufre y su superficie es lisa. El diámetro del lóbulo que en la región (c') de tránsito ha sufrido ya alguna disminución, se reduce en esta parte considerablemente; desaparecen en ella los vasos superficiales; está separada de la región segunda por una hendidura transversa, y dividida, a su vez, en dos partes (d) y (d'), distinguiéndose la segunda (d'), por ser más pequeña, de menor diámetro y más translúcida. Está unida esta última parte al lóbulo siguiente por un cordón intermedio o de unión (e), corto y ancho, translúcido, que al principio tiene los caracteres de la última parte del lóbulo a que está unido, y que pierde progresivamente el color amarillo y gana en transparencia, a medida que se aproxima a la región caudal.

El segundo lóbulo consta de la primera región translúcida (b_2), muy pequeña y a modo de casquete, de la región segunda blanca (c_2), algo mayor que ésta, aunque menor que su correspondiente del lóbulo anterior, siendo análoga de aspecto a aquélla; termina, posteriormente, en forma de bisel, con bordes redondeados. Hay una pequeña región de tránsito terminando el testículo por un pequeño apéndice cónico, transparente. Todo el lóbulo segundo es menor que el primero.

En el lado dorsal, está recorrido el testículo longitudinalmente por una gran hendidura que casi lo separa en dos mitades laterales; esta hendidura llega a ser visible en algunas partes hasta en el lado ventral. Esto ocurre débilmente en la región (b), y, sobre todo, muy marcadamente, en la región (d) y en el cordón

de unión. En esta hendidura se insertan las hojas del peritoneo *(mesorchium)*, de las cuales pende el testículo.

Testículo de 29 de enero (fig. B).—Consta también de dos lóbulos de muy desigual tamaño; el anterior, mucho mayor y formado de varias regiones, y el posterior, pequeño y menos complicado; están unidos por un cordón intermedio delgado. Posee lacinia pulmonar (*a*) grande (en la figura no está representada entera); carece totalmente de lacinia posterior.

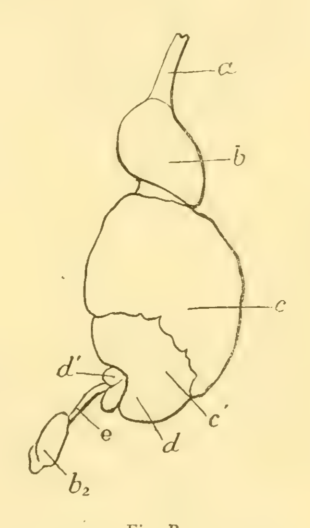


Fig. B.
Testículo de 29 de enero, visto por el lado ventral. × 5.

La región primera (*b*) es pequeña todavía, y se prolonga anteriormente en la lacinia pulmonar, no habiendo separación marcada entre ambas; termina esta región por una hendidura de bordes redondeados. La región segunda, blanca (*c*), es muy grande y posee los mismos caracteres que su correspondiente del testículo anteriormente descrito; la región tercera, amarilla (*d*), es pequeña y no bien limitada de la anterior. Hay una pequeña región (*d'*) más clara y casi transparente, que se continúa con el cordón intermediario *(e)*, delgado y translúcido.

El lóbulo posterior, mucho más pequeño, sólo consta de la primera región (b_2), pequeña.

Testículo de 8 de febrero (fig. C).—Presenta un solo lóbulo, con las lacinias pulmonar y caudal bien desarrolladas; la pulmonar está claramente dividida en dos por la hendidura longitudinal, así como casi todo el resto del testículo. La lacinia anterior *(a)* es más ancha en su porción posterior, continuándose con la primera región *(b)*, que es pequeña y de forma cónica y está separada posteriormente de la segunda región por una ancha depresión. La segunda región *(c)* es muy grande y abultada, casi esférica;

ocupa, como en los testículos anteriormente descritos, más de la mitad del volumen total del lóbulo. Hay región amarilla-clara de tránsito *(c')* cuyos límites con la segunda región están poco determinados, y una región de color amarillo intenso *(d)* muy pequeña y separada de la anterior por una hendidura transversal muy marcada. Sigue una pequeña porción *(d')* más translúcida, que se continúa con una lacinia caudal *(f)* muy larga y casi transparente.

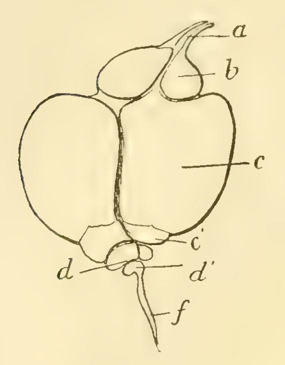


Fig. C.
Testículo de 8 de febrero; visto desde el lado dorsal. × 5.

Testículos de primavera

El testículo de un gallipato muerto en 23 de abril (fig. CH) presenta dos lóbulos grandes, el anterior mayor que el posterior, unidos por un delgado cordón intermedio; tanto uno como el otro tienen tres regiones de distinta coloración, la tercera amarilla, subdividida en varias. El lóbulo anterior está provisto de una lacinia pulmonar corta, y el lóbulo posterior posee una lacinia caudal que en el otro testículo está un poco abultada en la extremidad.

La lacinia pulmonar *(a)* es muy pequeña, y está dividida en dos por la hendidura longitudinal, que la atraviesa por completo. Sigue la primera región *(b)*, que presenta la forma de un casquete esférico, y alcanza casi a la cuarta parte de la longitud del lóbulo; se ve en ella, cerca del borde posterior, alguna reticulación superficial.

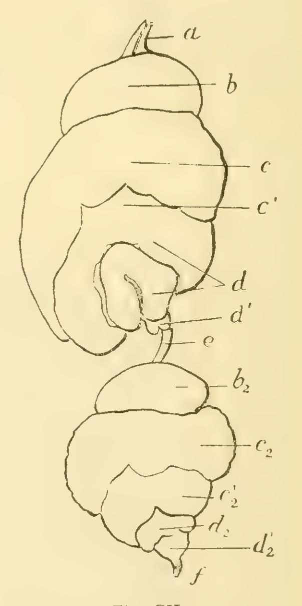


Fig. CH.
Testículo de 23 de abril; visto del lado ventral; el lóbulo superior algo deformado. × 5.

La región segunda *(c)*, de superficie reticulada y color blanco, tiene una extensión igual a la mitad del lóbulo. La región siguiente *(d)*, parece en este lóbulo alcanzar un tamaño casi igual al de aquélla. Esto es debido a que, por algo de deformación en el testículo al fijarlo, ha quedado casi toda esta región del lado ventral, que es el dibujado, mientras que por el lado dorsal apenas si se ve una pequeña porción de ella. En el lóbulo posterior están mejor conservadas la forma y proporciones de las distintas partes.

Esta tercera región amarilla está subdividida, como en los casos anteriores, en una región de tránsito *(c')* más clara, con superficie reticulada, y vasos sanguíneos superficiales numerosos (esta parte ocupa en este testículo bastante extensión), y otra más pequeña, amarilla, de superficie lisa *(d)*, en la cual se ve en la figura la hendidura longitudinal, que llega, al través de ella, a hacerse visible desde el lado ventral; está seguida de una pequeña porción amarillenta translúcida *(d')*, que se continúa con un cordón intermediario *(e)*.

En el lóbulo segundo, la región translúcida (b_2) presenta un aspecto análogo al de su correspondiente del lóbulo primero; la región segunda blanca (c_2), es relativamente algo menor, y la amarilla consta de tres partes: una (c'_2) separada de la región blanca por una simple depresión, con la superficie muy reticulada y con numerosos vasos; otra (d_2) amarillo intenso y sin vasos superficiales, y una tercera lisa y algo translúcida (d'_2), terminando el testículo con la lacinia caudal *(f)*, como antes dijimos.

En un testículo de un gallipato sacrificado en 22 de mayo (figura D) hay dos lóbulos de muy desigual tamaño: uno anterior, grande, normal; y otro posterior, muy pequeño y formado de una sola parte, unidos ambos por un cordón transparente bastante largo.

Tiene una lacinia pulmonar *(a)* grande, bien desarrollada, y carece totalmente de lacinia caudal. La región primera, translúcida *(b)*, alcanza una extensión como de la mitad del lóbulo pri-

mero, y, como en todos los demás casos, está bien limitada de la región siguiente. En los casos hasta ahora estudiados, el diámetro máximo del lóbulo estaba situado en la región segunda; en este caso, la porción más ancha es ya la primera. La región segunda, blanca (*c*), ocupa sólo una pequeña extensión, a modo de un grueso disco, y su superficie presenta la reticulación bien marcada. El espacio que ocupaba ha sido invadido por la tercera región (*d*), que ya es mayor que ella, aunque siempre de menor diámetro.

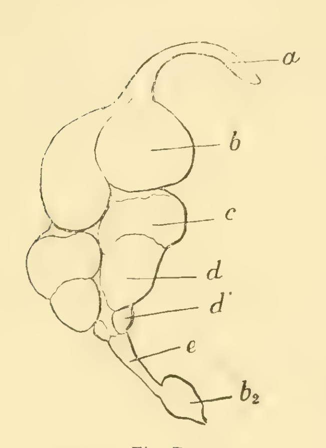


Fig. D.
Testículo de mayo; aspecto del lado dorsal. × 5.

Sigue a la tercera región, amarilla, una porción (*d'*) translúcida muy pequeña y bastante estrechada, que se continúa por el cordón intermedio transparente (*e*), el cual la une al segundo lóbulo, formado solamente de una región primera (b^2) pequeña y casi transparente.

Todas las regiones del lóbulo anterior aparecen divididas en dos por la hendidura longitudinal.

Testículo de 25 de mayo (fig. E.).—Posee dos lóbulos, el anterior mayor, lacinia pulmonar, cordón de unión corto, y carece en absoluto de lacinia caudal.

La lacinia pulmonar (*a*) es muy larga, delgada, algo más ancha en la base; no se continúa con la primera región del lóbulo anterior, sino que parece destacar de ella. Esta última (*b*) es casi tan grande como la mitad del lóbulo, de forma esférica, abultada, con la hendidura longitudinal que se marca en ambos lados.

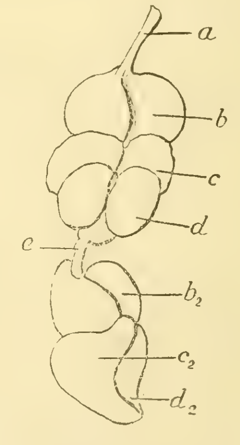


Fig. E.
Testículo de 25 de mayo. × 5.

La región segunda, blanca (*c*), es muy

pequeña, representa aproximadamente un quinto de la longitud del lóbulo y está unida a la tercera región (*d*), amarilla, que es indudablemente mayor que ella. Sigue una pequeña parte translúcida, amarillenta y el cordón de unión (*e*).

El segundo lóbulo es más pequeño que el anterior, tanto en longitud como en diámetro, y está como incompleto, careciendo de las últimas partes. Su región primera (b_2) es más pequeña que su correspondiente en el otro lóbulo; pero en relación con el tamaño del lóbulo, tiene volumen equivalente. La segunda región (c_2), termina de un modo análogo a su correspondiente en el testículo de 25 de noviembre (figura A); aunque como es natural, es mucho menor que allí, y lleva una pequeña zona amarillenta (d_2), que apenas se distingue de ella, si no es por el color, y que representa la tercera región, que no está bien formada.

En el testículo derecho termina la segunda región en una especie de punta que, por su color amarillento, indica ser la región tercera.

Carecen ambos testículos de lacinia caudal.

Testículos de verano.

En 19 de junio, el testículo estaba formado también de dos lóbulos desiguales (fig. F), uno grande, constituído por tres partes, y uno pequeño, formado por una sola, unidos por un largo cordón.

La lacinia pulmonar (*a*) es corta, pero ancha, se continúa en la primera región (*b*), que es muy grande, fusiforme, alcanzando a más de la mitad del volumen del lóbulo, y conteniendo el diámetro máximo. Posteriormente envuelve, en parte, las restantes regiones.

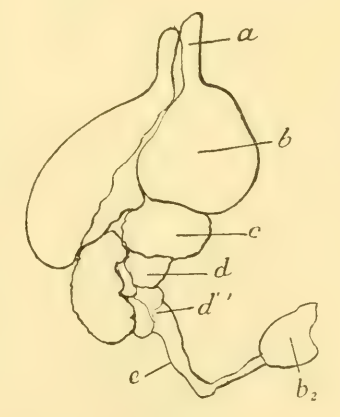


Fig. F.
Testículo de 19 de junio; visto del lado dorsal. × 5.

La segunda región (*c*), blanca,

está ya muy reducida, y la región amarilla *(d)*, aunque mayor que ella, está algo reducida con relación a los testículos anteriores. Se prolonga en un largo cordón de unión *(e)*, que consta de dos partes: una anterior, más ancha y opaca *(d')*, con caracteres de región tercera, y otra más delgada y transparente, que se continúa por el segundo lóbulo, formado sólo por la región primera (b_2). Carece de lacinia caudal.

En 26 de julio maté dos gallipatos, cuyos testículos (figs. G y H) eran de gran volumen y estaban extraordinariamente inyectados en sangre. Uno de ellos (fig. G) presenta dos lóbulos; en el dibujado que es el testículo del lado derecho, el lóbulo anterior es mayor que el posterior. En el testículo del otro lado ocurría todo lo contrario, siendo el lóbulo anterior mucho más pequeño que el posterior. Carecen en absoluto de lacinia pulmonar; la lacinia caudal es muy pequeña, y el cordón de unión, delgado, pero muy largo.

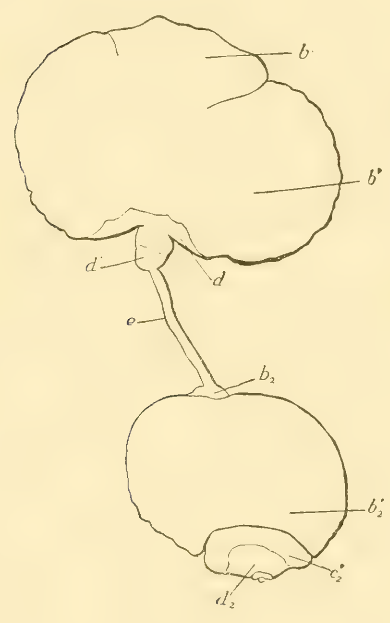


Fig. G.
Testículo de 26 de julio. × 4.

El gran volumen del testículo es debido, casi exclusivamente, al extraordinario desarrollo que ha adquirido la región primera, que constituye la mayor parte de él. La región segunda, blanca, ha desaparecido totalmente en los lóbulos anteriores. En los posteriores, sólo hay una pequeña parte (c'_2) de ella, pero ya con color amarillento, y que recuerda a las regiones de tránsito *(c')* de los testículos de invierno. Las regiones amarillas *(d* y *d')* están muy

reducidas con relación al tamaño que poseen en otros testículos.

La región primera ya no es homogénea; presenta zonas de aspecto distinto, que no están bien limitadas, pues se pasa insensiblemente de unas a otras; anteriormente presenta un casquete (*b*) mucho más translúcido y de superficie más lisa; va siendo más opaco, según se considera más posteriormente; en la parte (*b'*) aparece en su superficie una reticulación que cada vez es más marcada y de mallas mayores y más abultadas; el borde posterior es más opaco y tiene ya un aspecto blanquecino lechoso. En esta parte del testículo, la abundancia de capilares sanguíneos es extraordinaria.

La parte amarilla se continúa con el cordón de unión (*e*), translúcido, en su arranque amarillento, y que va perdiendo gradualmente este color para hacerse perfectamente transparente.

En el lóbulo posterior hay una pequeña región casi transparente, que forma como un casquete. La región grande (b_2) presenta la misma variación de aspecto que su correspondiente del lóbulo anterior. Hay, como hemos dicho, una pequeña región blanca amarillenta (c'_2); la región amarilla (d_2) es muy pequeña y termina el testículo con una lacinia muy reducida, aunque mayor que la del dibujo, en el testículo del lado izquierdo.

El testículo del otro gallipato, muerto en 26 de julio (fig. H), presentaba un solo lóbulo muy grande a cada lado, con gran cantidad de capilares sanguíneos, inyectados de sangre, que le daban un tono rojizo en fresco. Presenta lacinia pulmo-

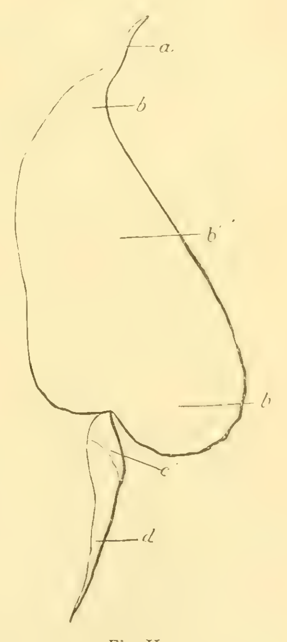


Fig. H.
Testículo de 26 de julio. × 4.

nar *(a)* bien desarrollada, que se continúa insensiblemente con la primera región, muy grande, piriforme, y que constituye ella sola casi todo el testículo. Presenta, como en el testículo anterior, tres zonas de aspecto distinto, pero de límites indecisos; la más anterior, gris, casi transparente (*b*); sigue una zona (*b'*) que, por la gran cantidad de sangre inyectada en sus numerosos capilares, tiene color rojizo; estos capilares describen en la superficie un retículo de mallas poligonales pequeñas; la zona ésta sigue siendo translúcida, pero va haciéndose cada vez más opaca, apareciendo en la parte (*b''*) el retículo marcado, por abultamiento, y el color blanquecino, característico en los testículos de invierno, de la región segunda.

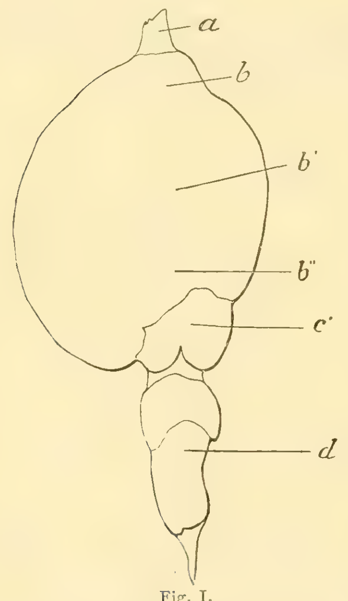


Fig. I.
Testículo de 15 de septiembre, aspecto externo. × 2,7.

Las otras partes del testículo están tan reducidas, que sólo forman como un apéndice unido a la anterior. Hay un región (*c'*) blanca amarillenta y una región amarilla (*d*) que se prolonga en forma de lacinia.

Análogo aspecto, disposición y relación de tamaño de las distintas partes, presentan los testículos de otro gallipato sacrificado en 27 de julio.

Testículos de septiembre.—Los testículos de varios gallipatos sacrificados en 15 de septiembre, presentaban dos aspectos distintos. Uno de ellos es el representado en la fig. I, y lo poseían tres de los gallipatos.

Consta de un solo lóbulo muy grande, con lacinia pulmonar larga, bien desarrollada, transparente. En la región primera del lóbulo, que lo forma casi por completo, se distinguen las mismas

partes que observábamos en los testículos del mes de julio; la última de ellas (b'') es muy extensa, forma casi la mitad de la región, y su color es más blanquecino, como allí ya indicábamos; estas partes no tienen límites claros, distintos, sino que se pasa insensiblemente de unas a otras.

Sigue a esta región una parte (c') que recuerda a la parte (c') de los testículos de invierno y primavera (figs. A, B y C), y termina el testículo con un apéndice análogo al del testículo de julio (fig. H) y formado de partes análogas, aunque mucho más robusto que era allí. De modo que la única diferencia entre este testículo y el de la fig. H, son el mayor desarrollo de la parte (b'') y la existencia, detrás de ésta, de la parte (c').

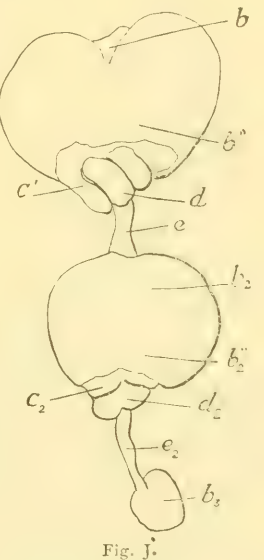


Fig. J.
Testículo de 15 de septiembre, aspecto externo. × 2,7.

El otro tipo de testículo presentado por un solo gallipato de gran tamaño (fig. J), consta de tres lóbulos unidos en rosario.

El primero carecía en absoluto de lacinia pulmonar; recuerda en esto al otro testículo de julio (fig. G); es el mayor de los tres lóbulos; su primera zona consta de una parte (b) muy pequeña y las otras muy extensas, sobre todo la (b'').

Sigue a la primera región una parte (c') análoga a la del testículo anterior, de un amarillo rojizo, intenso, y la parte (d) también de color muy fuerte. Está unido el lóbulo primero con el segundo, que es algo más pequeño, por una ancha cinta transparente (e) (cordón de unión).

El segundo lóbulo consta exactamente de las mismas partes que el primero, distinguiéndose sólo por su tamaño, que es algo menor. Se une al tercer lóbulo por un segundo cordón intermedio (e_2), que es mucho más delgado que (e).

El tercer lóbulo, que es muy pequeño, relativamente, sólo consta de una primera región (b_3). No existe lacinia caudal.

Todos los ejemplares de este mes presentaban signos indudables de estar en época de celo; callos de las extremidades anteriores muy desarrollados y extensos (llegan a cubrir la parte interna de la mano), y de un intenso color negro; labios de la cloaca gruesos, salientes; canales deferentes conteniendo espermatozoides.

2.—Resultado de la observación microscópica

En las páginas anteriores hemos visto que el testículo está formado de varias partes distintas, y hemos conocido los cambios que éstas experimentaban. Vamos a estudiar ahora el contenido de cada una de estas partes y el porqué de estas variaciones.

En la figura 1.ª presentamos la fotografía de un corte dado en el testículo de 25 de noviembre (fig. A), coloreado por hematoxilina y naranja G. Se ve en la figura el corte de los dos lóbulos; el cordón de unión *(c. un.)* no es completo por las condiciones del corte; falta la parte más anterior del primer lóbulo, su unión con la lacinia y ésta misma; ya vimos que esta parte había sido arrancada; describiremos, pues, el contenido de la lacinia en otro testículo que esté más completo.

Cada lóbulo consta de tres zonas distintas: una anterior, formada de vesículas conteniendo células sexuales *(z. sp.)*; la segunda *(z. spz.)*, más ancha, con vesículas mayores, conteniendo espermatozoides, dispuestos en paquetes arrollados en espiral; y una tercera *(gl.)*, formada por células de aspecto glandular entremezcladas de conectivo.

La primera zona corresponde a la primera región gris translúcida, que distinguíamos por observación exterior. Las vesículas están ocupadas por espermatogonias; en las más anteriores, son espermatogonias primarias que están dispuestas en una capa sobre la pared conjuntiva de la vesícula, dejando una cavidad en

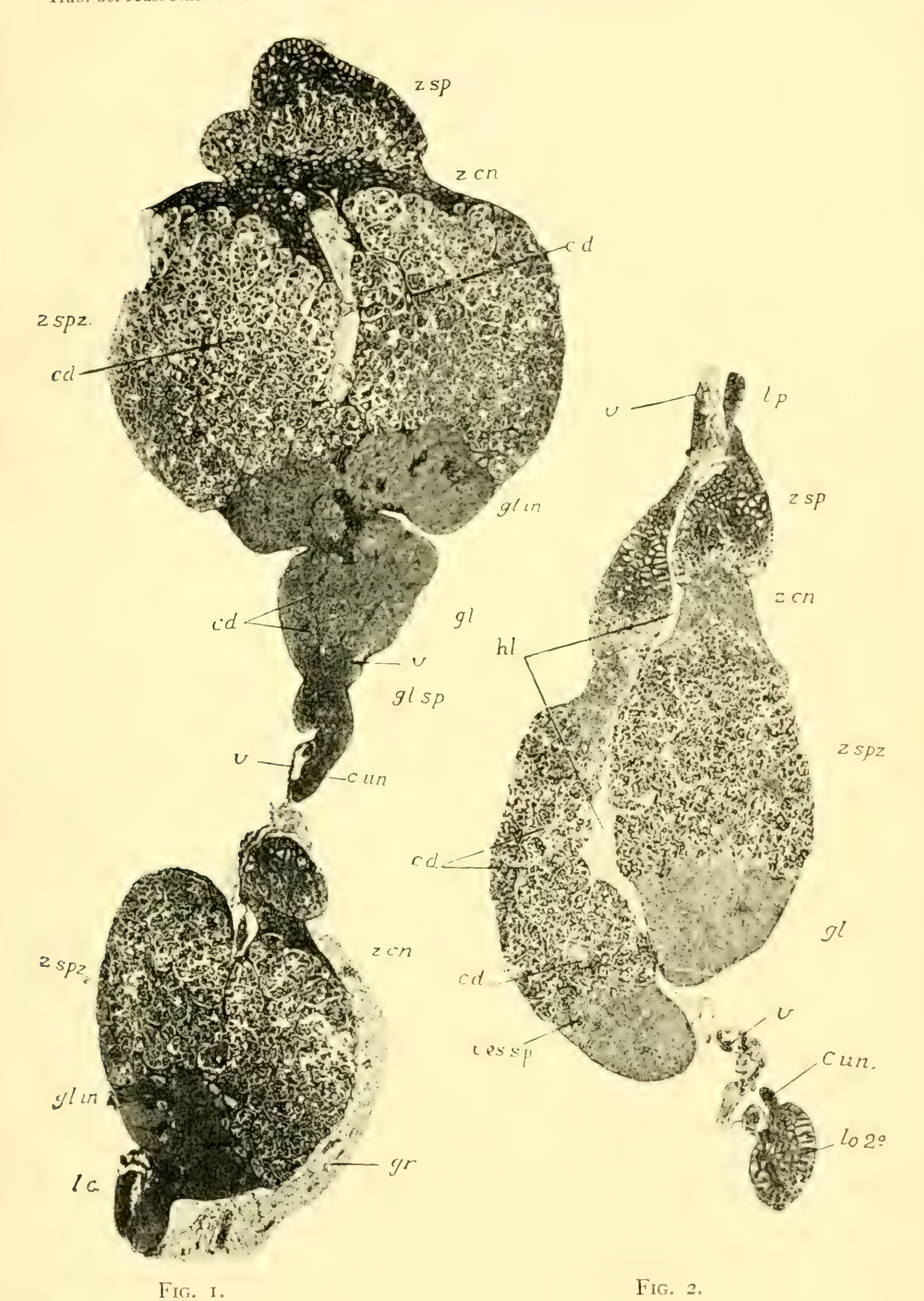


FIG. 1.

FIG. 2.

M. García Banús, fot.

el centro; están rodeadas por una cubierta de células más pequeñas y de distinto aspecto (*células foliculares* de von LA VALETTE SAINT-GEORGE); las vesículas siguientes, hacia la parte más caudal, van siendo mayores y están ocupadas por espermatogonias más pequeñas, dispuestas en pequeños acúmulos o montoncitos envueltos por las células foliculares.

En esta parte abundan poco los vasos sanguíneos y los canalículos deferentes, siendo el conectivo muy poco abundante.

En el límite de esta región con la siguiente, y correspondiendo a la hendidura transversa o estrangulación que se observa exteriormente, hay una zona de tejido conectivo (*z. cn.*) muy abundante que rodea a gran cantidad de vasos y canalículos deferentes, y que se caracteriza por la existencia de vesículas conteniendo células degeneradas.

La zona con vesículas grandes, llenas de espermatozoides, corresponde a la región blanca, y, como ya dijimos, ocupa mucha más extensión que las otras dos; el reticulado que observábamos en su superficie, es debido a marcarse exteriormente a bulto sus vesículas, que son muy voluminosas. Las vesículas más anteriores están ocupadas por espermatozoides pequeños, como imperfectamente formados y dispuestos sin orden; las demás vesículas contienen espermatozoides bien formados y dispuestos en paquetes arrollados en espiral. Se encuentran vasos sanguíneos y canalículos deferentes abundantes (*c. d.*), viéndose sus cortes por entre las vesículas; algunos se ven salir de la zona intermedia y ramificarse por la región. El conectivo entre las vesículas es más abundante en la parte más posterior.

La zona de células glandulares corresponde con la tercera región amarilla del testículo; el color amarillo es debido a contener las células gran número de gotas de grasa. Hay primero una zona (*gl. in.*), en la que las células están dispuestas formando vesículas, que todavía contienen algunos espermatozoides; según se va más posteriormente, las células son mayores, están dispuestas

radialmente alrededor de la cavidad de la vesícula, que va disminuyendo hasta desaparecer por completo, tomando entonces las células formas poliédricas, sin dejar espacio ninguno. La zona en que se conservan todavía las vesículas corresponde a la región de tránsito (*c'*, fig. A), menos amarilla y con retículo en la superficie; mientras que la otra parte *(gl.)* corresponde a la región francamente amarilla. Se ven algunas vesículas que se conservan todavía llenas de espermatozoides.

Entre las células glandulares se observan algunas de otro aspecto, con núcleo polimorfo y protoplasma granuloso, envueltas en una cubierta de células análogas a las foliculares de la primera región, y en relación casi siempre con uno de los muchos canalículos deferentes que recorren esta parte. Estas células son espermatogonias, y se encuentran con mucha más abundancia en el final de esta zona *(gl. sp.)*, que corresponde con la región *d'* (figura A), y, sobre todo, y casi exclusivamente, acompañadas sólo por tejido conjuntivo en el cordón de unión *(c. un.)*.

Iguales zonas, e igualmente dispuestas, se encuentran en el lóbulo segundo más pequeño, que termina en la zona *gl.*

El testículo de 21 de enero (fig. B) está representado en corte longitudinal en la figura 2. Consta de las tres partes ya conocidas. La primera se prolonga anteriormente en la lacinia pulmonar; como el corte pasa por la parte interesada por la hendidura longitudinal, todo el primer lóbulo, incluso la lacinia pulmonar, está separado en dos partes laterales.

La primera zona *(z. sp.)* es muy pequeña; está separada de la zona con espermatozoides maduros, por una región con vasos, canales deferentes y conjuntivo abundante *(z. cn.)*, que es muy extensa en este testículo.

La parte de espermatozoides *(z. spz.)*, muy extensa, ocupa casi la mitad del lóbulo. Falta en el corte que se fotografió el final de la zona glandular y parte del cordón de unión, viéndose sólo el arranque de éste en el lóbulo segundo *(c. un.)*. Este último *(lo. 2.º)*, consta solamente de la primera región.

En la lacinia pulmonar se encuentran espermatogonias grandes con núcleo polimorfo, dispuestas en *nidos* separados, y cubiertos por tejido conjuntivo, estando acompañadas por células foliculares; el tamaño de los nidos va aumentando según están más cerca de la base de la lacinia, debido este aumento a contener mayor número de células; los de la base son realmente ya vesículas, pues poseen una cavidad en el centro. Las vesículas de la región primera del testículo son cada vez mayores cuanto más posteriores, y contienen espermatogonias de segundo orden, sin llegar las células a estados más avanzados; en ellas son raros los casos de mitosis.

La zona de espermatozoides presenta el aspecto ya indicado anteriormente. En la parte más posterior de esta zona se ven entre las vesículas, abundantes células de aspecto glandular, análogas a las de la tercera región. Algunas vesículas, todavía con espermatozoides, quedan aisladas entre la zona glandular. Como en el caso anterior, se observa en otros cortes, que pasan por la unión de la zona glandular con el cordón intermedio, que en dicha parte la abundancia de espermatogonias y reducción del tejido glandular es continua y progresiva, hasta estar dicho cordón formado exclusivamente por las espermatogonias, con sus células foliculares, dispuestas en pequeños nidos, dentro de un conectivo muy abundante.

Por una evolución análoga a la que forma la primera zona, a expensas de la lacinia pulmonar en el lóbulo anterior, se forman, a expensas del cordón de unión, unas cuantas vesículas con espermatogonias en el lóbulo segundo. Este está formado exclusivamente por dichas vesículas, y la evolución de las células que contienen alcanza el mismo grado que en el lóbulo anterior.

La figura 3 representa el corte del testículo de 8 de febrero (figura C). Se observan las mismas partes que en los anteriores; se ve el arranque de la lacinia caudal *(lc.)*; falta la pulmonar, por no pasar por ella el corte que se ha fotografiado. En la zona de células sexuales *(z. sp.)*, la evolución no pasa de las espermato-

gonias; están dispuestas en vesículas, con una gran cavidad central; estas vesículas son mayores cuanto más posteriores. Son poco frecuentes las carioquinesis.

La zona de separación de las dos primeras regiones *(z. cn.)* es muy extensa, abundando las vesículas vacías con células degeneradas, y el conectivo es abundante.

La zona de espermatozoides *(z. sp.)* es mucho mayor que las otras dos, y sus vesículas que son muy grandes, están repletas de espermatozoides agrupados en paquetes curvos. El conectivo es más abundante entre las vesículas más posteriores. Se ven atravesando toda la región algunos canalículos deferentes y sus ramificaciones. También son frecuentes los cortes de vasos sanguíneos.

La zona glandular consta de dos zonas, que corresponden con las regiones *(c')* y *(d)* (fig. C); en la primera (1), las células están dispuestas en forma de vesículas, y dejan una cavidad en el centro como si fueran las mismas vesículas de espermatozoos con las paredes muy engrosadas. Esta disposición va desapareciendo por aumentar el tamaño de las células, y en la parte (*z. gl.*) las células de forma poliédrica muy irregular están dispuestas sin orden y sin dejar ningún espacio. Se nota la misma modificación ya indicada en los casos anteriores, para dar origen al cordón de unión; aquí se origina la lacinia caudal (*lc.*) que, como aquél, está formada por espermatogonias, con sus células foliculares rodeadas de un conectivo muy abundante.

Todo el testículo está separado en dos, por pasar el corte por la parte interesada por la hendidura longitudinal.

Testículos de primavera

Del mes de abril he estudiado varios testículos; algunos de ellos no han sido descritos en la parte anterior por no poseer datos de su aspecto externo, pero su anatomía microscópica da bien idea de su constitución.

---

(1) No está marcada con una letra especial en la figura.

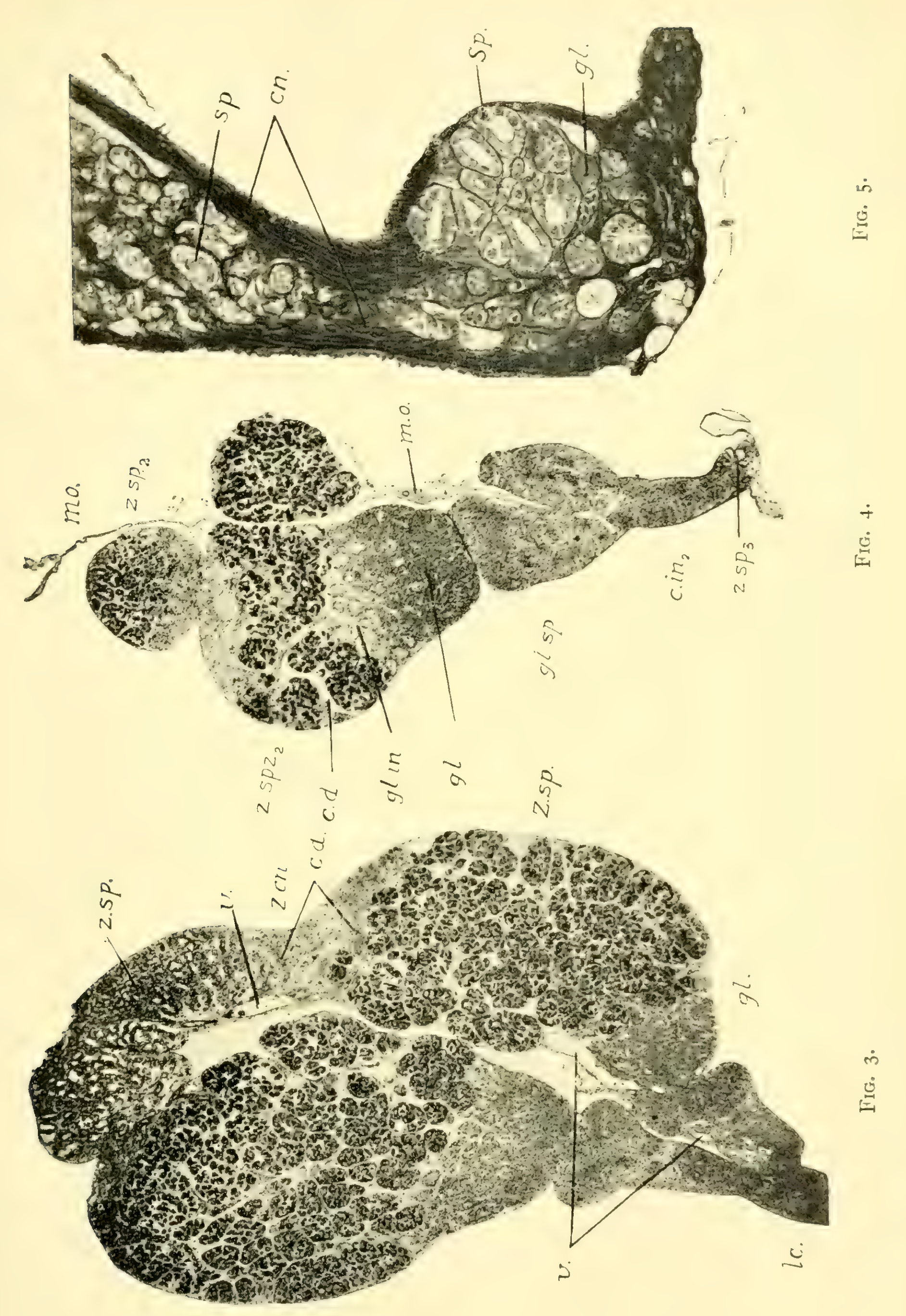


Fig. 5.

Fig. 4.

Fig. 3.

M. García Banús, fot.

Uno de ellos es del 6. Presenta dos lóbulos: el primero, algo mayor, con tres zonas, provisto de una corta lacinia pulmonar, contiene vesículas con espermatogonias; la evolución de las células no alcanza hasta el período de crecimiento; se encuentran algunas mitosis goniales; las últimas vesículas de la primera zona son notables por la abundancia de células degeneradas. La parte de separación entre las dos primeras regiones es muy extensa, abundando en ella el tejido conectivo. La parte de vesículas con espermatozoides maduros se encuentra muy reducida. La zona glandular presenta el aspecto ya descrito en otros testículos. El cordón de unión conserva en su parte anterior la estructura glandular; sólo en su parte más posterior tiene la estructura característica. El segundo lóbulo es muy pequeño, y no consta sino de la primera zona, formada por algunas vesículas de espermatogonias; sigue a éstas una zona de vesículas con células degeneradas y rodeadas de abundante conectivo.

Del testículo de 23 de abril damos sólo las fotografías del segundo lóbulo y del final de la lacinia caudal (figs. 4.ª y 5.ª).

El lóbulo anterior, que es más grande que el fotografiado, no presenta grandes diferencias con los anteriormente descritos; posee, en efecto, la lacinia pulmonar con espermatogonias grandes, que se continúa con la primera zona; ésta es algo mayor, presentando gran número de vesículas de espermatogonias de segundo orden. Se encuentran en sus límites posteriores algunas vesículas con espermatocitos al principio del período de crecimiento. La parte de separación entre las regiones primera y segunda es bastante extensa y con abundante conectivo. La zona de espermatozoides maduros es todavía relativamente importante, según vemos en el corte del lóbulo segundo que representamos, notándose en él la abundancia de canalículos deferentes *(cd.)* entre las vesículas de espermatozoos.

La zona glandular tiene mucho más desarrollo que en los testículos anteriores. Tiene, como en ellos, dos partes distintas; pero la primera (*gl. in.*), en la que las células conservan la dispo-

sición en vesículas, es mucho más extensa que en todos los casos hasta ahora estudiados; en el interior de alguna de las vesículas se conservan todavía espermatozoides. Viene luego la parte en que las células están dispuestas irregularmente (*gl.*), y en esta última abundan mucho las espermatogonias, que van siendo cada vez más numerosas, hasta formarse una lacinia caudal; pero ésta no termina el testículo, como en los casos anteriores; en su extremidad (fig. 5), algunas de las espermatogonias que en ella se encuentran (*sp.*) evolucionan formando unas cuantas vesículas de espermatogonias de segundo orden, análogas a la que forman la región primera. Entre estas vesículas el conectivo (*cn.*) es todavía muy abundante, y se encuentran numerosas células glandulares (*gl.*), características de la región tercera del testículo. La formación esta es pues un lóbulo pequeño, y la lacinia caudal es más bien un cordón de unión.

Otro testículo del mismo mes es el representado en la figura 6.ª; es de 19 de abril de 1913 (1). Los cortes son algo oblicuos, de modo que aparecen con una figura irregular; la hendidura longitudinal (*h. l.*) aparece interrumpida en dos puntos del corte.

Poseía este testículo lacinia pulmonar (no ha aparecido en el corte que he fotografiado por la oblicuidad de la serie), que, como siempre, contiene las espermatogonias grandes de núcleo polimorfo. La lacinia caudal aparece irregularmente en su arranque.

La primera zona (*z. sp.*) es pequeña; posee vesículas de espermatogonias de primero y segundo orden, y algunas con espermatocitos en el período de crecimiento. La región (*z. cn.*), con vesículas vacías y conectivo, que suele separar la primera y segunda zonas, es muy pequeña, pero la distinción es muy clara.

La segunda zona (*z. spz.*) es todavía muy extensa; posee nu-

---

(1) No ha sido descrito anteriormente por no poseer datos ni dibujos de su aspecto externo.

merosas vesículas con espermatozoos maduros; las más anteriores contienen menos espermatozoides, siendo éstos más pequeños y como degenerados.

Las últimas vesículas poseen paredes muy engrosadas con las células de mayor tamaño, cuanto más posteriores. Estas células, que pronto toman el carácter de las células glandulares de la tercera región, parece como si empujaran a los espermatozoides, que en estas vesículas pierden su disposición en paquetes y se encuentran revueltos y apelotonados, entremezclados con las células foliculares. Los numerosos canalículos (*cd.*) que recorren esta parte, y cuya comunicación con las vesículas puede verse, están llenos de espermatozoos.

El tránsito de esta parte a la zona glandular se hace insensiblemente; por espesamiento de las paredes de las vesículas, adoptan las células disposición radial alrededor de la cavidad, donde ya no hay espermatozoos; por último, desaparece la cavidad, adoptando la glándula el aspecto ordinario. Termina el testículo con espermatogonias de núcleo polimorfo. Dentro de la parte glandular puede verse en la fotografía una célula con aspecto de ovocito (*ov.*).

Por último, otro testículo de abril es el representado en la figura 7. No se ha descrito exteriormente, por ser también de 1913, y carezco de los datos precisos. En él ha desaparecido casi por completo la parte blanca (*z. spz.*), siendo escasas las vesículas que se conservan con espermatozoides; en cambio, son numerosas las vesículas vacías que van siendo poco a poco invadidas por conectivo y tejido glandular (*cn.* y *g. in.*).

Posee una lacinia pulmonar (*l. p.*) muy larga, con numerosos nidos de espermatogonias de núcleo polimorfo, rodeados de tejido conjuntivo abundante; sigue la primera zona (*z. sp.*), que es mucho más importante que en los testículos anteriores, tanto por la cantidad de vesículas como por el grado de evolución que alcanzan, pues hay ya bastantes con espermatocitos, llegando éstos hasta la fase de contracción nuclear; en esta parte son

más abundantes los vasos sanguíneos; se encuentran mitosis goniales, aunque no frecuentes.

Entre esta zona y las pocas vesículas que conservan espermatozoos se encuentran numerosas vesículas vacías, con las paredes aumentadas por el conectivo.

La zona glandular (*g. in.* y *gl.*) ocupa en este testículo el máximo de extensión; llega a ser más de la mitad del tamaño total del testículo; se puede decir que empieza en las mismas vesículas con espermatozoides, pues las células de las paredes de éstas presentan ya los caracteres de las células glandulares. Siguen vesículas vacías y con las células de las paredes mayores, y, por último, la región glandular con las células dispuestas irregularmente; esta parte (*gl.*) es muy extensa, y es notable por la gran cantidad de vasos (*v.*) que en ella se encuentran. La parte glandular se va estrechando gradualmente, y termina por una lacinia, en la cual existen todavía muchas células glandulares entre los nidos de las espermatogonias.

Aunque, como hemos visto en este último testículo del mes de abril, las vesículas con espermatozoos estaban casi vacías, en el de 22 de mayo de 1915 todavía se conservaban bastantes vesículas con espermatozoos. Sin embargo, su número y el espacio que ocupan en el testículo es mucho menor que en los testículos de abril del mismo año. La primera zona es muy extensa, la mitad del lóbulo o más; las células sexuales llegan en su evolución hasta espermatocitos en la fase de contracción nuclear. Las carioquinesis de espermatogonias son muy frecuentes.

La zona glandular está reducida en relación con testículos anteriores; tiene una parte en la que se conserva la disposición en vesículas. Posteriormente se adelgaza, formando un cordón de unión, cuya parte anterior conserva todavía numerosas células glandulares entre los nidos de espermatogonias, estando al final exclusivamente formado por éstas con el conectivo.

El lóbulo posterior, muy pequeño, sólo consta de la zona de

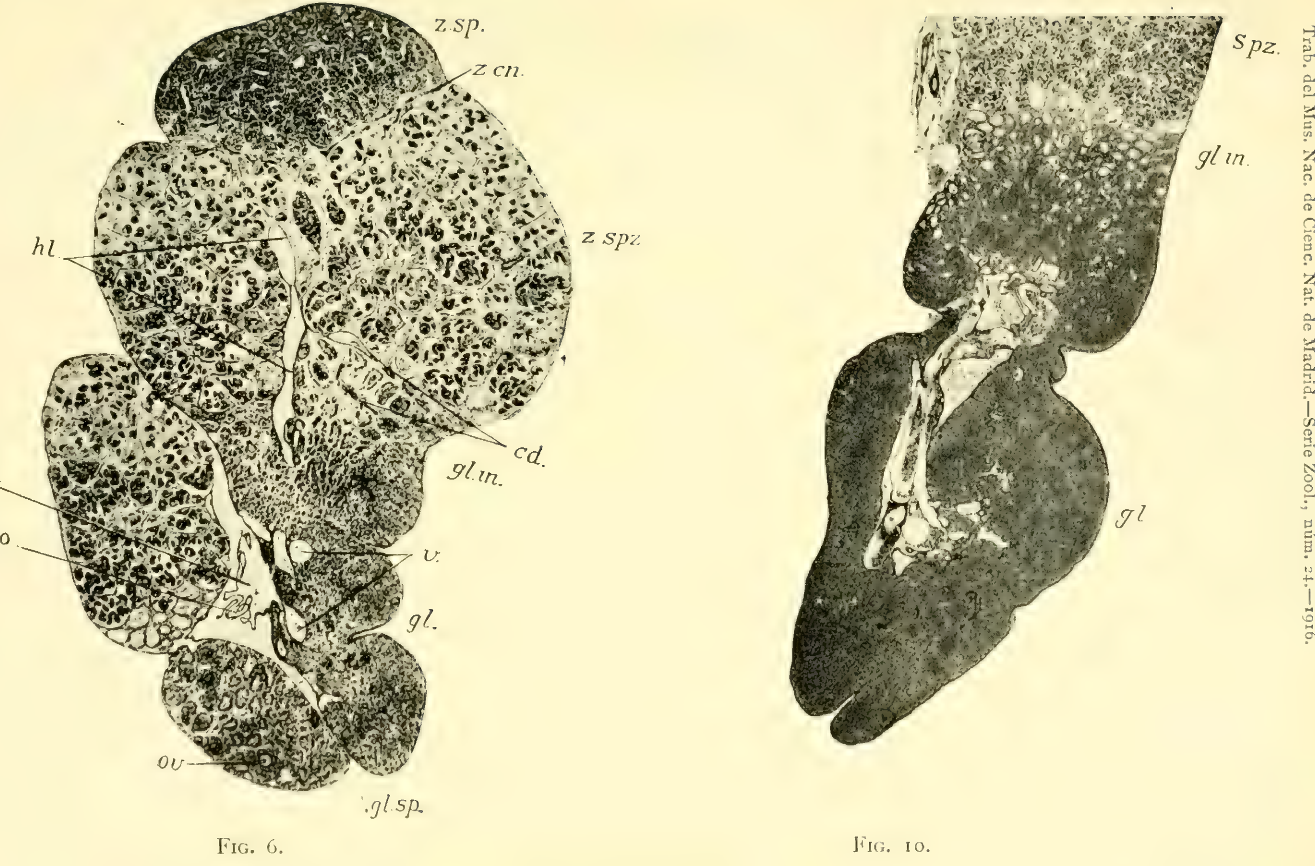


Fig. 6.

Fig. 10.

M. García Banús, fot.

células en evolución, alcanzando ésta hasta la misma fase que en el lóbulo grande.

En un testículo de 25 de mayo tampoco se han vaciado todas las vesículas de espermatozoides, si bien son pocas las que aun se conservan llenas. Está representado el testículo en la fotografía fig. 8; falta la lacinia pulmonar, que no ha entrado en el corte. La fotografía (fig. 12) está tomada de otro corte de ella en el mismo testículo.

La región primera (*sp.* y sp_2.) es muy extensa en ambos lóbulos; en el segundo, como la zona glandular es muy pequeña, forma más de la mitad del lóbulo. Son más abundantes que en ningún otro testículo las carioquinesis de espermatogonias; es, pues, importante la zona de multiplicación; también lo es la de crecimiento, pues hay numerosas vesículas con espermatocitos en distintos estados de su larga profase, que alcanza un grado más avanzado que en testículos anteriores. La región de espermatozoides (*spz.*) existe todavía, como hemos dicho, aunque pequeña, siendo el conectivo entre las vesículas, relativamente abundante.

Son muy numerosas las vesículas vacías (*gl. in.*), con las células de sus paredes en transformación hacia células glandulares; la zona de éstas (*gl.*) es extensa; su parte final (*gl. sp.*) y el cordón de unión (*c. un.*) presentan el aspecto de costumbre.

El lóbulo segundo es más pequeño; sus regiones primera y segunda son como las del anterior; pero la zona glandular ($gl. in_2$.) ocupa muy poca extensión. No está constituída más que por unas cuantas vesículas de paredes formadas por las células glandulares; falta por completo la parte en la cual la glándula está completamente constituída.

Del testículo de 19 de junio no tengo fotografía de un corte de conjunto; como puede verse en la fig. F, estaba formado de dos lóbulos unidos por un cordón largo formado de dos partes.

En la lacinia pulmonar, que es corta, y la primera región, muy extensa, se encuentra toda la evolución de las células sexua-

les, desde las espermatogonias de primer orden de núcleo polimorfo hasta las espermátidas. Se encuentran, pues, las siguientes zonas: de germinación y multiplicación, que son poco extensas; la de crecimiento (profase de los espermatocitos), muy extensa; zona de divisiones madurativas, que son muy abundantes, y una zona de espermátidas, formada por gran número de vesículas; los núcleos de las espermátidas no han empezado todavía a alargarse.

Todavía existe una zona de espermatozoides, aunque es muy reducida. La zona glandular es muy pequeña; se estrecha bruscamente, dando origen al cordón de unión. Este conserva en su primera mitad la estructura glandular, de modo que no es más que una parte de la tercera región, con el diámetro muy reducido. La segunda mitad del cordón de unión está formado por los nidos de espermatogonias; esta parte, realmente, es la única que puede llamarse cordón de unión. El cambio de una a otra parte es gradual y continuo, por desaparición de las células glandulares y aumento del número de espermatogonias y de tejido conjuntivo.

El lóbulo posterior es muy pequeño; no consta sino de la primera zona, formada por un limitado número de vesículas; la evolución de las células sexuales alcanza el mismo grado que en el lóbulo grande; es decir, hasta las espermátidas.

Testículos de verano

Testículo de 26 de julio.—El testículo de uno de los gallipatos muertos en esta fecha poseía dos lóbulos a cada lado; en el lado derecho, que es el dibujado en la fig. G, el anterior es mucho mayor que el posterior. En el del lado izquierdo ocurría lo contrario, siendo el lóbulo primero muy pequeño; en ambos carece de lacinia pulmonar.

Es característico de este testículo la desaparición de la zona de espermatozoides maduros. Sólo quedan algunas vesículas, cu-

yas paredes están ya formadas por células glandulares, pero que contienen restos de espermatozoides, no expulsados todavía.

Casi todo el lóbulo grande está constituído por la primera zona, con numerosas vesículas de células sexuales. Estas alcanzan en su evolución hasta la formación de espermatozoides, aunque incompletamente maduros, notándose esto por la débil afinidad de su cabeza para los colorantes cromatínicos (safranina, verde de metilo, etc.). Se encuentran en este testículo todas las fases de la evolución de las células sexuales; falta, sin embargo, casi por completo, la zona de multiplicación, pues no se encuentran sino muy escasas mitosis goniales; en cambio, son abundantes las divisiones madurativas. Se nota en esta parte gran abundancia de gotas de grasa, que se ennegrecen por el ácido ósmico; están en las vesículas con espermatocitos en el final de la profase, zona de divisiones madurativas y de espermátidas en involución. Son muy abundantes los vasos sanguíneos.

La zona glandular, en el testículo del lado derecho, está muy reducida. Está solamente constituída por unas cuantas vesículas, con las paredes formadas de células glandulares, y conteniendo restos de espermatozoides, a los que sigue una zona pequeña de células glandulares, entremezcladas con abundante conectivo y numerosas espermatogonias y vasos sanguíneos. Las células glandulares van haciéndose cada vez más escasas, cuanto más posteriores, terminando el testículo por una lacinia corta, formada por espermatogonias, con abundante conectivo.

El lóbulo anterior carece en absoluto de lacinia pulmonar; falta también toda la zona de espermatogonias de segundo orden y de espermatocitos. Empieza el testículo por vesículas con espermátidas ya en involución; siguen vesículas con espermatozoides en período de maduración; la zona glandular es más extensa que en el lóbulo posterior; hay vesículas con restos de espermatozoides. Se continúa el lóbulo por un cordón de unión muy largo.

El otro testículo de 26 de julio (fig. 9.ª) presenta interiormente

un aspecto análogo. Han desaparecido completamente los espermatozoides del año anterior. La lacinia pulmonar (*lp.*) es muy larga y contiene numerosos nidos de espermatogonias. En la zona primera, que constituye por sí sola casi todo el testículo, hay pocas vesículas con espermatogonias secundarias (*sp.*), siendo escasas las mitosis; en cambio, la zona de crecimiento es muy extensa. Son todavía frecuentes las mitosis madurativas; hay numerosas espermátidas (*spt.*); pero, sobre todo, la parte más importante es la zona de evolución y maduración (*spt'.*) de los espermatozoides. Se notan en ella numerosos vasos sanguíneos y abundantes gotas de grasa.

En la fotografía se nota el arranque de la lacinia (*gl.*) que observábamos exteriormente; no es realmente una lacinia, sino una zona glandular, cuyo diámetro es muy reducido; sin embargo, el aspecto y disposición de las células es completamente normal. Está separada de la primera zona por unas cuantas vesículas vacías pero cuyas paredes están ya formadas por células glandulares; abundan en ella los vasos sanguíneos, de los cuales se ven los cortes claramente.

Al final de esta zona, las células se reducen de tamaño, vuelven a alargarse y adoptan de nuevo, poco a poco, el carácter de células conectivas.

Testículos de septiembre.—El testículo de la figura 1.ª está representado en corte en la figura 10; la fotografía no muestra más que la mitad más posterior. La lacinia contiene, como de costumbre, los nidos de espermatogonias de primer orden. Son escasas las vesículas de espermatogonias de segundo orden; al final de la zona que las contiene, son numerosas las vesículas con células degeneradas; corresponden a espermatocitos en período de crecimiento. Son más escasas las divisiones de reducción que en los testículos anteriores.

La zona de espermatozoides en formación es todavía muy extensa; se continúa con una parte de espermatozoides maduros (*spz.*), que destacan por la mayor intensidad con que se colorean.

Sigue a esta parte una zona muy extensa (*gl. in.*), que corresponde a la parte *c'* que observábamos exteriormente, constituída por vesículas vacías, o medio vacías, y con las paredes, cada vez más engrosadas, y formadas por células con carácter glandular, que se van cargando de gotas de grasa. Se ven gruesos canales deferentes, completamente ocupados por espermatozoides.

Después de un estrechamiento en que abundan los vasos y canales deferentes, viene el apéndice (*gl.*), que describimos exteriormente (*d.*, fig. I), y que está formado por numerosas células glandulares y canalículos deferentes.

Es notable en este testículo la gran cantidad de células que presentan la degeneración oviforme; en un solo corte he llegado a contar hasta doce.

El otro tipo de testículos de septiembre (fig. J) no ha sido fotografiado por no presentar particularidad notable.

El primero de los tres lóbulos que posee, carece de lacinia pulmonar, y, como en el caso del lóbulo anterior del testículo de 26 de julio, fig. G, faltan en él las zonas de espermatogonias de primero y segundo orden, y la de espermatocitos. Empieza el testículo por vesículas con espermátidas en involución, y continúa por otras de espermatozoides en estados diversos, hasta la completa madurez. La parte *c'* está formada, como en el testículo anterior, por vesículas con las paredes de células glandulares, y cuya cavidad se cierra progresivamente.

La parte *d* está formada por tejido glandular, espermatogonias de núcleo polimorfo y tejido conectivo abundante. Se continúa, como de costumbre, por un cordón intermediario, que aquí es muy largo.

El segundo lóbulo sólo se distingue del primero por la existencia de las zonas de espermatogonias y espermatocitos que en aquél faltaban. Está unido por un segundo cordón intermediario al tercer lóbulo, muy pequeño, que consta solamente de la primera región, formada por unas cuantas vesículas cuyas células

alcanzan en su evolución hasta la formación de espermatozoides.

Se distinguen los testículos del mes de septiembre de los del mes de julio (figs. G, H y 9.[a]), por la existencia de la parte *gl. in.* de formación nueva de tejido glandular, que en aquéllos se iniciaba. Conservan, además, la parte *d*, que en aquéllos existía todavía, aunque muy limitada ya.

Testículo de 16 de octubre.—Es el último de la serie, que no fué descrito anteriormente en su aspecto externo por carecer de datos precisos para ello. Está representado en la figura 11 y consta de un solo lóbulo, grande todavía, pero ya menor que los últimos descritos.

Poseía lacinia pulmonar, cuyo arranque se ve en la figura. Se presenta todavía en plena espermiogénesis; la zona de espermatogonias (*sp.*) es poco extensa; hay también pocas vesículas con espermatocitos; son escasas las divisiones de maduración, aunque todavía se encuentran, y pequeño el número de espermátidas (*spt.*).

Es más extensa la zona de espermatozoides en formación (*spz'.*), y, sobre todo, los ya formados en distintos grados de maduración (*spz.*), habiéndo numerosos completamente maduros.

Es notable en este testículo el gran número de células degeneradas, a pesar de haber sido muerto el gallipato inmediatamente a su captura. En el anterior vimos que ya eran frecuentes las células degeneradas en las vesículas con espermatocitos en principio de su profase; en este testículo abundan, entre las últimas generaciones de espermatogonias, y más aún en las vesículas con espermatocitos; son frecuentes también las divisiones madurativas anormales y degeneradas, así como las espermátidas; y, por último, los espermatozoides de las vesículas más anteriores presentan numerosos casos de deformaciones y raquitismo.

Existe también muy extensa la zona de vesículas vacías con paredes formadas de células glandulares (*gl. in.*), y una zona glandular con numerosas espermatogonias (*gl.*), terminando el testículo por un principio de lacinia caudal.

Fig. 11.

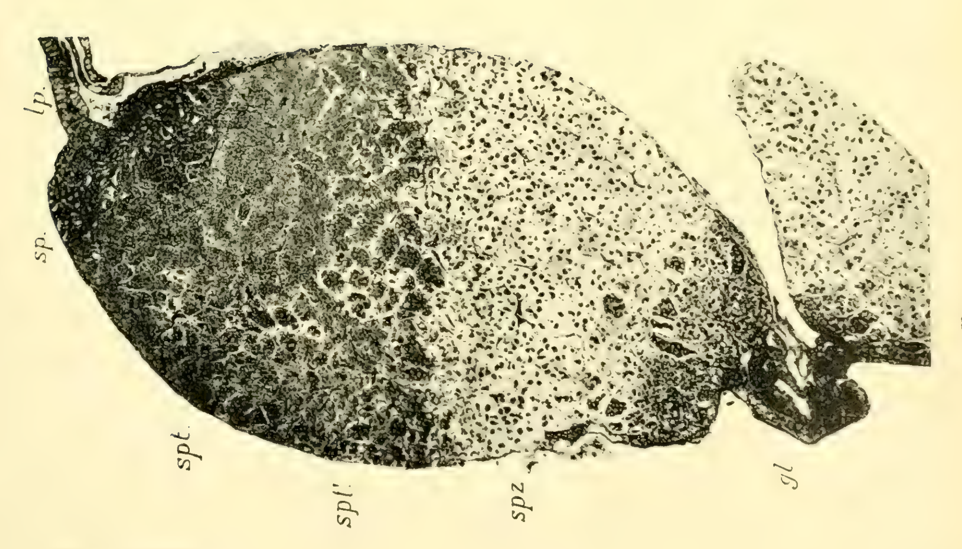


Fig. 9.

M. García Banús, fot.

3.—Resumen y comparación con otros Urodelos

El testículo del gallipato no difiere, por lo que hemos visto hasta ahora, esencialmente de los testículos de otros Urodelos. Puede constar, como el de éstos, de varios lóbulos, formado cada uno de varias partes, de constitución diferente, que se refleja exteriormente por aspecto y color distintos; estas partes se repiten de un modo análogo de uno a otro lóbulo cuando hay varios.

El número ordinario de lóbulos es un término medio entre los otros urodelos, pues frecuentemente es de dos, algunas veces uno solo y rara vez tres (testículos de 15 de septiembre, fig. I, y de 23 de abril, fig. CH; en este último es muy pequeño el tercero, fig. 5); los lóbulos, cuando son más de uno, están unidos, en forma de rosario, por cordones transparentes.

Existe casi siempre un cordón o lacinia pulmonar gris transparente (falta en los testículos de 26 de julio, fig. H, y de 15 de septiembre, fig. I). En esta lacinia, y en los cordones de unión, están contenidas espermatogonias grandes de núcleo polimorfo, que están dispuestas, en unión de células foliculares, en nidos rodeados de tejido conectivo.

Los lóbulos están formados de partes de distinto aspecto y color. En los testículos de otoño e invierno, estas partes son constantemente tres: una anterior, unida a la lacinia pulmonar o al cordón de unión (según sea o no parte de un primer lóbulo), gris translúcida; una segunda, blanca, opaca, de superficie con abultamientos, y, por último, otra amarilla, lisa. Esta última puede estar subdividida en dos, siendo entonces la anterior menos amarilla. La zona primera gris está siempre marcadamente separada de la segunda blanca, por una hendidura o depresión transversa. En cambio, entre la zona amarilla y la anterior no hay límites bien determinados, pasándose siempre de la una a la otra por tránsito insensible, sobre todo cuando en la parte amarilla se

diferencia en su parte anterior una menos coloreada, y que conserva todavía los abultamientos que se marcan en la zona anterior.

Cuando el testículo está formado por más de un lóbulo, el último de ellos puede ser incompleto, no conteniendo sino algunas de las regiones características; las que existen son siempre las más anteriores. Así, en los testículos de 29 de marzo, 22 de mayo y 19 de junio, el segundo lóbulo no está formado sino de la primera región, ocurriendo lo mismo con el tercer lóbulo del testículo de 15 de septiembre (fig. J); y en el testículo de 25 de mayo, tiene las dos primeras regiones completas, faltando la región amarilla casi por completo.

Puede existir en muchos casos una lacinia caudal, cloacal o terminal; pero esto no ocurre sino cuando el lóbulo terminal está completo, constando de la parte amarilla, que es donde siempre arranca la lacinia cloacal; en los otros casos arriba citados no existe ésta.

En la zona anterior gris, están contenidas las células sexuales, dispuestas en vesículas y acompañadas de las células foliculares. No existen, por tanto, tampoco en este testículo, tubos seminíferos. La zona segunda, blanca, está formada por vesículas mayores, llenas de espermatozoides. En la zona tercera, amarilla, se encuentran unas células de aspecto glandular que están cargadas de grasa; en los cordones de unión y lacinia caudal, cuando existen, están contenidas espermatogonias en un todo análogas a las de la lacinia pulmonar; sólo se distinguen de ésta por la mayor abundancia de tejido conectivo.

Al llegar la primavera, la primera región, gris, del testículo crece rápidamente; este crecimiento es debido a dos causas: de un lado, al aumento en el número de vesículas por división de las espermatogonias contenidas en la lacinia pulmonar; de otro, el aumento considerable del volumen de estas mismas vesículas, producido por multiplicarse rápidamente las espermatogonias de segundo orden que contienen, produciéndose gran número de ellas.

En los testículos de abril se nota ya que muchas espermatogonias dejan de dividirse y, creciendo de volumen, dan origen a los espermatocitos; este aumento de volumen de las espermatogonias hace crecer visiblemente la primera región del testículo que las contiene; la formación de espermatocitos dura hasta últimos de verano; terminan algunos por primera vez su profase en el mes de junio, donde se ven las primeras divisiones madurativas, que continúan todo el verano produciéndose gran número de espermátidas. Con todo esto alcanza la primera región durante el verano un tamaño considerable, formando casi exclusivamente el volumen del testículo.

La transformación de las espermátidas en espermatozoides empieza en julio y dura hasta octubre; a últimos de julio se observan ya algunos espermatozoides formados, aunque no completamente maduros.

Durante la época de formación de las espermátidas y de su evolución, la parte del testículo que las contiene toma un color rojizo amarillento, debido a la gran cantidad de sangre inyectada en sus numerosos vasos capilares y a las gotas de grasa que abundantemente se encuentran en sus vesículas.

Los espermatozoides formados dan a la parte del testículo que los contiene un color blanco brillante. Este color empieza a aparecer a mediados de agosto por el borde posterior de la primera región del testículo, y avanza en dirección a la cabeza al aumentar el número de vesículas en que los espermatozoides han terminado su evolución. En los testículos de verano, en los que todavía hay espermatocitos en el período de crecimiento, existen ya muchos espermatozoides formados, y al mismo tiempo numerosas espermátidas; así se explica las tres zonas que observábamos en la primera región de los testículos de esta época (figs. G-J).

Al llegar el otoño, todas las espermátidas qúe se habían producido están transformadas en espermatozoides, y toda la parte que los contiene queda transformada en la región segunda del testículo; en la parte anterior quedan algunas vesículas de esper-

matogonias, que no han evolucionado, unidas a la lacinia pulmonar, las cuales han de constituir la primera región durante el invierno siguiente, para recomenzar a la primavera la evolución que acabamos de indicar.

En la parte segunda del testículo, permanecen los espermatozoides largo tiempo, hasta el momento de ser empleados. Entonces son expulsados por los canalículos deferentes, que se observan abundantemente en esta región, recorriendo entre las vesículas, estando en relación cada una de ellas, con una de sus ramificaciones; en el punto de entrada del canalículo en la vesícula, se encuentra un grupo de espermatogonias de núcleo polimorfo, análogas a las descritas por Nussbaum en *Salamandra* y *Triton* con el nombre de espermatogonias residuales *(Restspermatogonien)*.

La época de celo no está en el gallipato limitada a un corto período, como en *Triton* y *Salamandra* (Champy, 1913). Según Schreiber (1913), se encuentra en celo durante casi todo el año; Boscá (1877) lo ha visto en cópula en el mes de marzo, y yo mismo he observado ejemplares con aspecto de estar en época de celo, en primavera, en julio y en septiembre.

Las cópulas de primavera se realizan a expensas de los espermatozoides que se hallaban durante el invierno en la región segunda; así vemos que, a partir del mes de marzo, empieza ésta a disminuir de extensión, llegando en algún caso (testículo de la figura 7) a estar completamente agotada en el mes de abril; pero, en general, se conservan todavía algunas vesículas con espermatozoides hasta el mes de junio.

A partir de esta época, en general, el agotamiento es completo, no encontrándose ya espermatozoides del año anterior. Solamente en un caso, en un testículo de un gallipato muerto en 3 de julio de 1913, se encontraban, al lado de vesículas de espermatozoides en formación, numerosas vesículas con espermatozoides del año anterior; estaban separadas unas de otras por la zona de vesículas degeneradas con conectivo abundante, que en todos

los casos separa la primera de la segunda región del testículo; se distinguían perfectamente de los espermatozoides nuevos por la gran intensidad con que su cabeza se coloreaba por los colores cromatínicos.

Las cópulas de fin de verano se realizan, pues, a expensas de los espermatozoides que se han formado nuevamente, de los cuales se emplea solamente una parte, quedando la mayoría para constituir la segunda región del testículo durante el invierno siguiente.

Al vaciarse las vesículas de espermatozoides, se forma, a expensas de ellas, la tercera región amarilla, indicada ya por Leydig y por Nussbaum como un tejido de degeneración, comparada por el último y por Champy con el cuerpo amarillo del ovario de los mamíferos. Tanto unos como los otros, la describen en *Triton* y *Salamandra* como una formación pasajera, que se origina al ser expulsados los espermatozoides, para ser reabsorbida poco tiempo después. Solamente en el caso que cita Nussbaum de salamandras que habían pasado el invierno en un acuario del laboratorio, y que él cree completamente anormal, debido a las malas condiciones de la vida en cautividad, se conserva esta parte hasta el invierno. Fuera de esto, en ningún caso se encuentran, según Champy, señales de esta formación en *Triton* ni en *Salamandra* antes de la época de la expulsión de los espermatozoides.

Ya hemos visto que, en el gallipato, es una formación constante en condiciones normales. En todos los ejemplares muertos inmediatamente a su captura se encuentra esta parte más o menos desarrollada, según la época del año. Esta es la diferencia más grande del testículo del gallipato con relación al de los otros urodelos.

Se forma aquí, análogamente a lo indicado por Champy en *Triton* y *Salamandra*, a expensas de las células que forman las paredes de las vesículas, que aumentan de tamaño, y tomando aspecto de células glandulares, llegan a llenar completamente la cavidad de aquéllas, aprisionando a las espermatogonias residua-

les con sus folículos. Quedan éstas, como hemos visto, entremezcladas con las células glandulares en grupos de dos o tres, en relación con el canalículo deferente, que desembocaba en la vesícula donde se encontraron primeramente.

La característica de las células de la parte glandular es la acumulación de gran cantidad de gotas de grasa. A esto es debido el color amarillo que posee esta parte, análogo al de los cuerpos adiposos de todos los anfibios. Entre las células se encuentran numerosas fibras de tejido conectivo, formando una red muy complicada. Tiene lugar la formación de esta parte del testículo principalmente en dos épocas: una de ellas en primavera, cuando se vacían las vesículas de la segunda región; en esta época la formación es muy importante, siendo sustituída toda la región blanca, que, como sabemos, en invierno es la mayor del testículo, por la región glandular. En el testículo de la figura 6 se ha sorprendido la formación en plena actividad.

La otra época de formación de tejido glandular es a fines de verano, cuando se emplean algunos de los espermatozoides nuevamente formados; así se ha originado la parte (*c'*) de los testículos de las figuras I y J. En la figura 11 puede verse la gran extensión que la zona intermedia de formación adquiere en estos testículos.

La parte glandular sufre una importante regresión, disminuyendo considerablemente su volumen, en los meses de junio a agosto, cuando la espermatogénesis, o, mejor dicho, la espermemiogénesis, se encuentra en el máximo de actividad. Coincide la desaparición de la glándula, cuyas células hemos dicho contenían gran cantidad de grasa, con la aparición de ésta, en forma de numerosas gotas, en las vesículas que contienen espermátidas y espermatozoides en formación, y alcanza el máximo la reducción cuando también lo alcanza la formación de éstos.

Se verifica la desaparición de la parte glandular, por reducción de las células, aumento del tejido conectivo, y, exteriormente, por una disminución grande del diámetro del testículo, y

una pérdida del color amarillo, con aumento de la transparencia, en la parte del testículo en que se verifica.

Al desaparecer las células glandulares, quedan sólo las espermatogonias residuales, que entre ellas se encontraban, presentándose en mayor número y con mayor tamaño, rodeadas por abundante tejido conjuntivo, formando la parte que hemos denominado lacinia caudal o cloacal, o cordón de unión, cuando hay un lóbulo posterior.

Esta regresión de la glándula y formación del cordón de unión, o de la lacinia posterior, tiene lugar durante casi todo el año, pero especialmente, con mayor importancia, en julio y agosto, desapareciendo aquélla casi por completo, para dar origen a largas lacinias caudales o a cordones intermedios del tipo del de la figura F, largo y formado de dos partes, una anterior, que conserva numerosas células glandulares, y otra posterior, formada ya exclusivamente de espermatogonias con abundante conectivo-

La lacinia caudal, con sus espermatogonias de núcleo polimorfo, es una segunda zona de generación, análoga a la lacinia pulmonar. Dichas espermatogonias pueden evolucionar lo mismo que las de ésta, dando origen a vesículas de espermatogonias secundarias. Ejemplo de esto lo tenemos en la lacinia cau. dal del testículo de 23 de abril, fig. CH, que tenemos representada en la fig. 4, y con más aumento en la fig. 5. En ellas vemos algunas vesículas con espermatogonias, dispuestas en una sola fila, alrededor de una cavidad; entre estas vesículas, el conectivo (*cn.*) (coloreado en la preparación de la fig. 5 por el azul de Lyon) es muy abundante, como entre los nidos de la lacinia, y existen todavía algunas células glandulares (*gl.*), que no han desaparecido por completo.

Estas vesículas darán origen a un tercer lóbulo, análogo al del testículo de la figura J. Si fuera en un testículo de un solo lóbulo (fig. C), daría lugar a un segundo, como en los testículos de las figuras B, D y F; estos lóbulos, al principio, no poseen más que la primera zona, pero que luego dan origen a las demás.

Es digno de notar que esta formación del nuevo lóbulo tiene lugar en la misma época (principios de primavera) en que se verifica la producción de nuevas vesículas, a expensas de las espermatogonias de la lacinia pulmonar, y que las células del nuevo lóbulo, en cualquier época del año en que se le considere, y por muy pequeño que sea y escaso número de vesículas que contenga, siempre se encuentran en la misma fase de la evolución que las del lóbulo grande.

Vemos, pues, que en el gallipato se verifica la regeneración del testículo de las dos maneras descritas por Nussbaum (1905 y 06) en *Salamandra* y *Triton;* una por una zona generativa que da origen a la lacinia pulmonar, y otra por espermatogonias que quedan sin evolucionar *(Restspermatogonien)*, y que, formando la lacinia caudal, dan origen a nuevos lóbulos. Esta última manera ha sido negada por Champy (1913) para dichas especies; pero en el gallipato es indudable.

En algunos casos (testículos de 26 de julio y 25 de septiembre, figuras H y J), la primera zona de generación parece que se agota; ambos casos eran gallipatos de gran tamaño; Nussbaum (1906) cita algún caso del mismo género en ejemplares de *Triton* viejos. Entonces, cuando todas las espermatogonias de la lacinia pulmonar hayan evolucionado, desaparecerá ésta, y aun la primera región, como ocurre en dichos testículos, y mucho más acentuado en el lóbulo anterior del testículo del lado izquierdo del gallipato muerto en 26 de julio.

Más adelante, cuando los escasos espermatozoides formados por las últimas espermátidas hayan sido expulsados, sólo quedará la parte glandular, la cual, transformada en cordón de unión, desaparecerá con el lóbulo anterior del testículo, quedando como única zona de generación dicho cordón de unión, transformado en una falsa lacinia pulmonar.

En los testículos de fin de invierno se notan en las vesículas del borde posterior de la primera zona numerosas células con marcados caracteres de degeneración; este hecho, señalado tam-

bién por Champy en *Triton* y *Salamandra*, y que ocurre aun en ejemplares que han sido sacrificados inmediatamente a su captura, es debido a una precipitación en el principio de la evolución, de modo que, no estando todavía en condiciones el testículo, causa la muerte de las células, y su degeneración consiguiente. Este fenómeno es llamado por Champy *preespermatogénesis* dándolo como común a todos los anfibios; vemos, pues, que el gallipato está de acorde con ello.

Observamos también que, en los testículos de principio de otoño, los últimos espermatozoides formados ofrecían aspectos de raquitismo o de formación anormal; además, casi todas las espermátidas y espermatocitos estaban completamente degenerados. De modo que así como las espermatogonias que evolucionan prematuramente degeneran, aquéllas que lo hacen tardíamente, cuando las buenas condiciones del verano han pasado, producen espermatozoides anormales primero, y, por último, degeneran, antes de formarlos, en la fase de espermátidas o espermatocitos; ejemplo de esto tenemos en los testículos de 15 de septiembre y de 16 de octubre (figs. 10 y 11), y sólo de espermatozoides mal conformados en el testículo de 25 de noviembre (fig. 1.ª).

Las vesículas que contienen estas células degeneradas se reducen de tamaño, y son invadidas por el tejido conectivo, formándose de este modo la zona de separación entre las regiones primera y segunda de los testículos de invierno, que dura hasta la expulsión total de los espermatozoides. Dicha zona es aumentada por las vesículas que degeneran a causa de la *preespermatogénesis*, a principios de primavera.

La evolución del testículo del gallipato se verifica, por lo anteriormente dicho, de la siguiente manera:

Las espermatogonias que hay en la zona de generación originan por su división la primera región, que está formada por vesículas con espermatogonias de segundo orden, las cuales, al llegar la primavera evolucionan, dando origen a los espermato-

citos, y éstos a las espermátidas. Durante el verano las espermátidas se transforman en espermatozoides. Parte de ellos son empleados en el mismo año; los que no lo son, constituyen durante el invierno la segunda región, que dura hasta la primavera siguiente, desapareciendo por ser expulsados los espermatozoides en las cópulas. A expensas de las vesículas se origina una parte de aspecto glandular, cuyas células contienen numerosas gotas de grasa. Dicha parte, que se origina por tanto en primavera, se reduce grandemente durante la época de actividad espermiogenésica, y vuelve a aumentar en septiembre; de ella se origina la lacinia cloacal, que contiene de nuevo espermatogonias, las cuales, evolucionando de un modo análogo a las de la región generativa, dan origen a un nuevo lóbulo del testículo, repitiendo el proceso que acabamos de indicar.

No he observado nunca en el gallipato casos, análogos a los descritos por Champy (1913) en *Triton*, de existir dos zonas de espermatozoides, una anterior y otra posterior a la de células en evolución, o de estar entremezcladas las vesículas conteniendo espermatogonias con las que contienen espermatozoides. En los numerosos casos por mí estudiados, el orden y la disposición de las distintas partes está conforme con lo descrito.

SEGUNDA PARTE

Anatomía de las distintas regiones del testículo y evolución de los elementos accesorios

En la parte anterior del presente trabajo hemos tenido ocasión de ver cómo en el gallipato, en contra a lo indicado por distintos autores para los restantes urodelos, existe constantemente el tejido glandular, que se forma durante gran parte del año, y que llega a adquirir una gran importancia, con relación a las otras partes del testículo, en algunas épocas. Es, pues, el gallipato un material excelente para estudiar su formación y estructura.

Según Champy (1913), que es el único que hasta ahora lo ha descrito con algún detalle, si bien en *Salamandra* y *Triton*, se forma en dichas especies, a expensas de las células que forman los por él llamados *cistos de primer orden*, y de las células de las paredes de dichos cistos. Estas células, o por lo menos las primeras, son las que otros autores, siguiendo a von La Valette Saint-George, llaman *células foliculares*. Las que se encuentran entre los cistos serían los elementos conjuntivos que, según la mayoría de los autores (Leydig, Hermann, Meves y Nussbaum), se encuentran entre los cistos o vesículas, rodeándolas y separándolas unas de otras.

Según Nussbaum (1906), está en cambio formado este tejido, que él llama de degeneración, a expensas de las células foliculares.

Su formación depende, según esto, de los elementos accesorios del testículo, es decir, de aquellas células que, además de las sexuales, se encuentran constituyendo el testículo, o de alguna de estas células, si es que hay varios tipos de ellas.

Uno de los problemas más discutidos, aun modernamente, no sólo en el testículo de los anfibios, sino también en el de los

mamíferos, es la cuestión del origen de dichos elementos accesorios del testículo, y, entre ellos, de las células llamadas de SERTOLI en los mamíferos, y células *foliculares* en los anfibios y peces, y, en todos los casos, células vegetativas o células nutritivas del testículo. Son elementos celulares que constantemente acompañan a las células sexuales, y que parece llegan a tener con ellas gran relación, no sólo de contacto, sino también de cambio de substancias, sirviendo según se ha demostrado en muchos casos, para alimentar al elemento reproductor en formación.

Respecto a las células de SERTOLI de los mamíferos, se las supone generalmente de igual origen que las células sexuales; proceden del epitelio germinativo, que produce dos clases de células: unas pequeñas, que dan origen a las células sexuales, y otras mayores, que lo son de las células de SERTOLI.

En los anfibios, según BOUIN (1900) y DUSTIN (1907), proceden ambas clases de células del epitelio peritoneal; en el esbozo de la glándula genital se encuentran, al lado de las células sexuales grandes, otras pequeñas, enteramente análogas a las restantes de dicho epitelio, y que posteriormente se disponen, en forma de folículos, alrededor de las células sexuales, pudiendo estar aisladas, dentro de cada folículo, o en grupos formados por varias.

BOUIN (1900) supone que las células peritoneales pequeñas, pueden transformarse en células sexuales. En estados más avanzados penetran en el esbozo de glándula genital, cordones de células llamados *cordones medulares*, que, procediendo del mesenquima subperitoneal, según BOUIN, o del cuerpo de WOLFF, según HOFFMANN, dan origen al tejido conjuntivo y a las vías deferentes del testículo.

CHAMPY (1913), habiendo visto algún caso en la *Rana*, en que faltaban las pequeñas células peritoneales, entre las células sexuales, supone que las células de folículo se originan a expensas de las que penetran con los cordones medulares, siendo siem-

pre de origen mesenquimatoso. Además, describe en el testículo adulto de los anfibios las células foliculares como iguales a las de tejido conjuntivo intersticial, siendo muy difícil, según él, distinguir unas de otras, y confundiéndose en muchos casos.

Para CHAMPY no hay, pues, en el testículo de los Urodelos, aparte de las células sexuales, más que una sola clase de elementos, de origen siempre mesenquimatoso, que dan origen a cistos primarios y secundarios, modificándose los que están más próximos a las células sexuales por razón de contacto, y quedando los restantes con carácter conjuntivo, sin que se encuentre ninguna diferencia esencial entre ambas. Estas células, sin distinción alguna, son las que forman, según CHAMPY, la glándula.

En el gallipato no he podido estudiar la formación embriológica del testículo por falta de material; de modo que desconozco el origen exacto de los distintos elementos del testículo. Pero he estudiado en el testículo del adulto las células accesorias, para ver si realmente había una o dos clases de ellas, y en este último caso, cuáles son las que forman la glándula. Para ello he estudiado las distintas regiones del testículo que hemos reconocido en la parte anterior del trabajo, fijándome en ellas especialmente en la disposición anatómica y estructura histológica de los elementos accesorios.

I.—LACINIA PULMONAR

En la lacinia anterior se encuentran grandes células de núcleo polimorfo, que son las espermatogonias primitivas, y otras pequeñas que las rodean, que son las células foliculares de von la VALETTE SAINT-GEORGE, o *Randzellen*, de von RATH. Se encuentran en unión de abundante tejido conjuntivo.

Las figuras 12 a 14 dan idea del aspecto de conjunto de esta parte del testículo, coloreada con distintos métodos. Se ve en ellas, sobre todo en las 12 y 14, por estar impregnado el conjuntivo por la plata reducida (método de ACHÚCARRO), cómo en me-

dio de un tejido conjuntivo abundante (*cn.*), que aparece en negro en las figuras, se destacan espacios claros irregulares (*ni.*), que no son otra cosa sino los *nidos (Nestern*, de MEVES) donde se encuentran las espermatogonias, en unión de las células foliculares.

Uno de estos *nidos* está representado con más aumento en la figura 15; en ella se ven dos espermatogonias (*sp.*) grandes, con núcleo polimorfo; existía otra en el mismo nido, en el espacio marcado +, la cual, por no entrar en foco, está oculta por numerosas células foliculares (*fol.*). Estas células foliculares envuelven por completo a las espermatogonias por todos lados, y a cada una individualmente, aislándolas por completo unas de otras.

Alrededor del conjunto formado por las espermatogonias y células foliculares, se puede ver el abundante tejido conjuntivo (*cn.*) que rodea al nido, formando como una especie de cubierta que le aisla y separa de los otros que se encuentran próximos. Estos nidos son macizos, ocupando las células que los forman todo el hueco que deja el conectivo.

Conforme a lo indicado por NUSSBAUM (1906) en *Salamandra* y *Triton*, y en contra a CHAMPY (1913), para las mismas especies, los nidos de espermatogonias del gallipato se encuentran en comunicación con un canalículo deferente. Estos canalículos pueden verse claramente en las figuras 13 y 14 (*c. d.*) en comunicación con distintos nidos, y están formados por células epiteliales, con una fuerte cubierta de tejido conectivo, que se continúa con el que envuelve al nido (fig. 14); éste aparece como una ampolla formada en la extremidad del canalículo.

Estos canalículos deferentes se reúnen en otros de mayor diámetro (fig. 14, *C. d.*); estos últimos están situados y se dirigen todos al mismo lado de la lacinia, en la parte por donde se une ésta con las hojas de peritoneo que forman el *mesorchium*, continuándose con los conductos que corren por éstas, terminando en el riñón.

Cn. Ni. Cd. cd. cn.

Fig. 14.

c.d Sp. Ni fol.

Fig. 13.

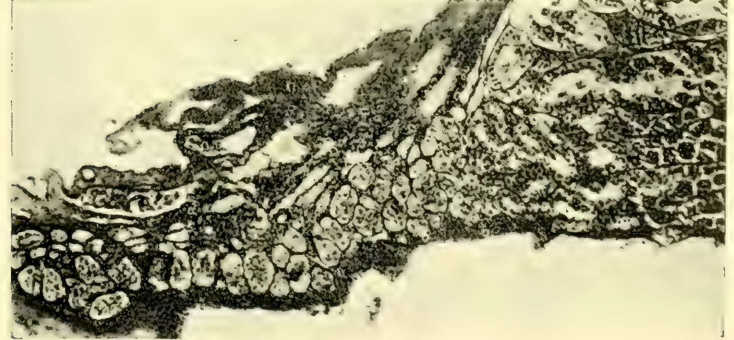


Fig. 12.

M. García Banús, fot.

Cuando la hendidura en que se inserta el *mesorchium* interesa a la lacinia, los canalículos deferentes se encuentran a ambos lados de aquélla.

El conjunto de los nidos, dispuestos unos a continuación de otros, forma una especie de cordón irregular, situado en el eje de la lacinia, el cual está envuelto por varias capas de tejido conjuntivo; toda la lacinia está cubierta, a su vez, por un epitelio de células, casi cúbicas en su extremidad más anterior, más alargadas cuanto más posteriores; no es otra cosa sino una parte de epitelio peritoneal que recubre todo el testículo y que se continúa con el que forma las hojas del *mesorchium*.

Entre el conectivo que se encuentra separando unos nidos de otros, he observado en algunos casos, sobre todo en testículos de primavera, algunas células pigmentarias. Son análogas a las que se encuentran abundantemente en otros órganos de los anfibios (en el hígado especialmente); al contrario de lo que ocurre en el testículo de otras especies (*Rana temporaria*, *Pelobates*, etc.), donde son tan abundantes que dan exteriormente al testículo una coloración verdosa o negruzca; en el testículo del gallipato son muy escasas, encontrándose sólo en contados casos, y en pequeño número y aisladas.

Estructura de los nidos.—Como hemos dicho, se encuentran en ellos espermatogonias de primer orden, grandes y con núcleo polimorfo o multilobulado. Cada una de ellas (fig. 15, *sp.*) está completamente rodeada por células foliculares (*fol.*); poseen, pues, un folículo propio cerrado. Sin embargo, en muchos casos los núcleos de las células foliculares están colocados, preferentemente, hacia la periferia del nido, de modo que se forma alrededor del grupo de espermatogonias que lo constituyen, como una cubierta de núcleos (fig. 13); en estos casos, en el centro del nido no hay más que el protoplasma de las células foliculares, que envuelve y separa unas de otras a las espermatogonias; pero en la mayoría de los casos existen también núcleos foliculares en la parte de contacto de unos folículos con otros.

Alrededor del conjunto formado por las espermatogonias con sus folículos, se encuentra una capa de tejido conjuntivo que envuelve al nido y lo aisla de los otros que están próximos.

Células foliculares. — Al estar estas células rodeando a las espermatogonias, y comprimidas por las que envuelven a espermatogonias próximas, claro es que han de poseer poco volumen; en efecto: presentan formas laminares, alargadas; mucho más gruesas en el punto donde se halla el núcleo; no forman más que una capa sencilla alrededor de cada espermatogonia; los límites celulares son muy difíciles de ver: aparecen como fusionadas; sin embargo, no puedo asegurar, pues no lo he comprobado suficientemente, que no sean independientes.

El protoplasma es muy escaso; forma una lámina delgada alrededor de la espermatogonia que recubre; es algo más abundante alrededor de los núcleos; presenta un retículo fino, donde se ven, sobre todo en las proximidades del núcleo, abundantes granulaciones (tal vez mitocondrias).

Los núcleos presentan formas variables, por tenerse que adaptar al sitio que les dejan las espermatogonias; frecuentemente son ovales irregulares, ensanchados (fig. 15); muy a menudo, vistos de perfil, tienen un contorno triangular o de media luna rodeando a la espermatogonia; están en contacto íntimo con la membrana de ésta, siendo escaso el protoplasma de célula folicular que los separa.

De su estructura nos da idea la figura K (*N. fol.*), dibujada con mayor aumento, de una preparación coloreada por el método de PRENANT, de un testículo fijado por licor de BOUIN. Presenta un fino retículo de linina, coloreado de rosa, en el que está dispuesta la cromatina en pequeños gránulos; de vez en cuando, estos gránulos se acumulan en grumos cromáticos mayores, pero siempre diferenciables en granos; la figura 15 está tomada de una preparación coloreada por la mezcla verde metilo-fuchsina-naranja G., tras de fijación con sublimado, y dibujada la croma-

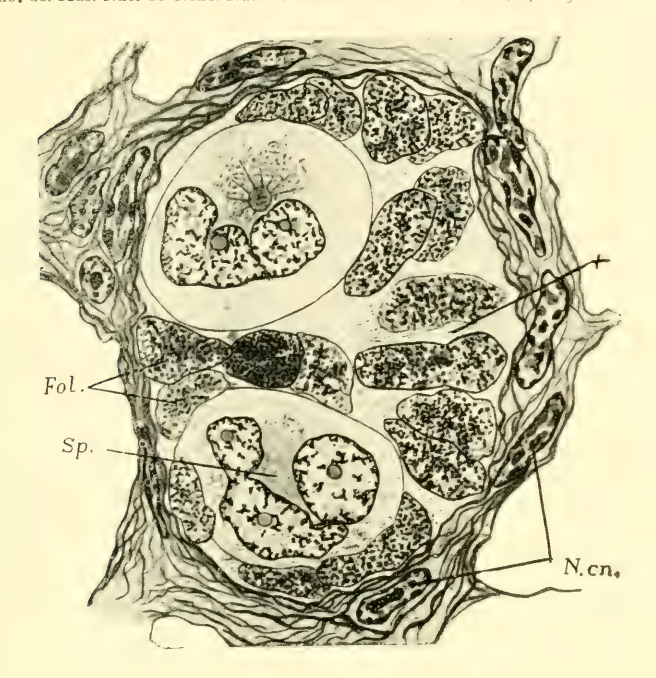


FIG. 15.

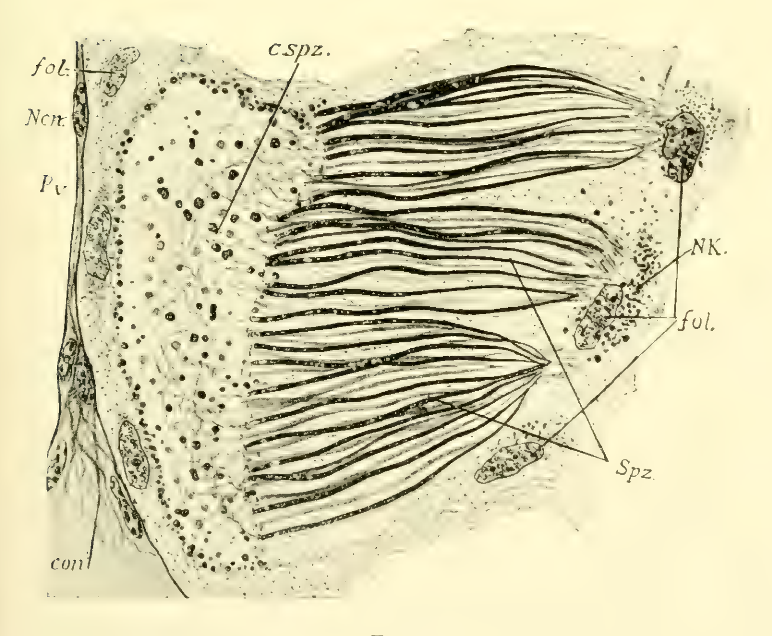


FIG. 16.

M. García Banús, del.

tina de los núcleos empleando el vidrio rojo de la serie de filtros para luz monocromática de Köhler (Sheffer, 1912); se ve claramente la disposición en gránulos de la cromatina, que destaca por estar coloreada en verde.

Poseen estos núcleos formaciones análogas a nucleolos, aunque no son muy claros. No he observado esferas atractivas ni centrosomas, tal vez por quedar ocultos fácilmente, dada la escasez de protoplasma.

Se encuentran las células foliculares frecuentemente en carioquinesis, siendo entonces mucho más aparentes los límites celulares y los centrosomas.

Tejido conjuntivo.—Es muy abundante en esta parte del testículo, entre los nidos de espermatogonias; destaca claramente de las demás estructuras por colorearse intensamente en verde por el método de Prenant; en azul fuerte (muy selectivo), por el azul de Lyon; pero, sobre todo, con el método de Achúcarro, para la neuroglia, es como más limpiamente destacan las abundantes fibrillas que en él se encuentran, en un color negro, o pardo castaño muy obscuro, y completamente opaco, sobre un fondo amarillo claro, transparente.

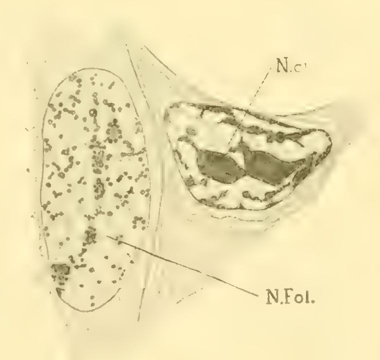


Fig. K.

Núcleos de célula folicular *N. Fol.* y de tejido conjuntivo *N. cn.*
Fijación Bouin. Método de Prenant. Obj. 2 mm., 1.30; oc. 18.: × 1700.

Los núcleos de las células de este tejido son algo menores que los de las células foliculares, y se distinguen claramente de éstos por su forma y aspecto, como puede verse en las figuras 15 y K.

Presentan formas alargadas, estrechas, a veces acordonadas, sinuosas. Su cromatina, como puede verse en la figura K, está en un retículo de linina de mallas gruesas, dispuesta en grandes

cariosomas, que se prolongan por las mallas del retículo, uniéndose unos con otros; hay también algunas masas o granos gruesos aislados.

Se distinguen claramente de los núcleos de las células foliculares en las preparaciones teñidas por la mezcla triácida, pues mientras éstos aparecen, vistos con poco aumento, como teñidos casi uniformemente de verde, siempre se ve en los núcleos de tejido conjuntivo cómo están formados por masas independientes.

Alrededor del núcleo puede observarse, en casi todos los casos, la existencia de una pequeña cantidad de protoplasma, donde no hay fibras diferenciadas; presenta un fino retículo, no habiendo sido posible ver en ningún caso ni esfera ni centrosoma.

La característica de este tejido es la existencia en él de numerosas fibrillas que se impregnan selectivamente con la plata; son las fibras colágenas y de conectivo reticulado.

Se observa constantemente un sistema de fibras gruesas colágenas, que entrelazándose, originan alrededor del nido, en contacto con las células foliculares más externas, una lámina conjuntiva, la pared propia del nido. Se ve en la figura 14 destacarse esta parte en algunos puntos; esta lámina rodea todo el nido y se continúa con la que rodea el canalículo deferente que de él sale; no es una lámina continua, sino más bien una red de fibras gruesas y apretadas.

Cuando la separación entre dos nidos es escasa, no existen entre las membranas propias de ambos sino algunas pocas fibras, que circulan entre ellas, paralelamente entre sí y a las secciones de las mismas, ramificándose apenas; este espacio estrecho se ensancha algo más cuando se encuentra un núcleo en el trayecto; entonces las fibras se separan para rodear al núcleo y al protoplasma que le envuelve.

En espacios donde hay más cantidad de conectivo, que puede ser cuando los nidos están más separados, o en los puntos de reunión de varios nidos, se ve cómo las fibras que son mucho

más abundantes, pierden la dirección rectilínea, haciéndose sinuosas, y ramificándose frecuentemente, recorriendo el espacio dejado entre los numerosos núcleos que allí se encuentran.

Pueden distinguirse fácilmente varios tipos de fibras. Unas son muy gruesas y visibles aun con poco aumento, y que parecen formadas, vistas con más aumento, por haces de fibras más finas; son las mismas que forman la membrana propia y se separan de ella en los puntos en que el espacio entre dos nidos es más ancho, recorriéndolo con trayecto sinuoso y dando origen a otras fibras más finas, que van de unas a otras; este sistema de fibras gruesas debe de ser de naturaleza colágena, mientras que se encuentran numerosas fibrillas de otro aspecto, que forman, ramificándose y anastomosándose, una red complicada, en la que quedan aprisionadas las células conjuntivas; esta última clase de fibrillas pertenece, indudablemente, al tipo de conjuntivo reticulado.

Por ninguno de los métodos que hemos empleado para estudiarlas, ni aun con el de Achúcarro que tan selectivamente las colorea, hemos observado la existencia de fibrillas conjuntivas en el interior de los nidos, ni en el protoplasma de las células de folículo, ni tampoco entre éstas; quedan limitadas por la pared propia del nido, encontrándose sólo exteriormente a ésta.

Como hemos dicho, la túnica propia del nido, formada por fibras gruesas, es continua con la del canalículo deferente que en él desemboca; sin embargo, en este último las paredes son más gruesas, estando formadas por varias capas de conjuntivo, una de ellas con gruesas fibras anulares.

Envolviendo al conjunto de nidos que ocupan el eje de la lacinia, hay una capa de conjuntivo muy apretado, y con multitud de núcleos alargados en dirección al eje de la misma. Las fibras de esta parte de conjuntivo están también dispuestas longitudinalmente y se continúan con las que hay entre los nidos; es más abundante el conectivo en el lado de la lacinia, por donde penetran los canalículos deferentes, y también tanto más cuanto se

considera una parte más anterior de lacinia, de modo que en su extremidad anterior sólo se encuentran algunos nidos pequeños, sumergidos en un abundante conjuntivo (fig. 12).

El epitelio peritoneal que envuelve el testículo está formado, en la extremidad de la lacinia, por una fila de células casi cúbicas, con núcleos grandes, que se encuentran muy próximos unos de otros; hacia la base, al aumentar el diámetro de aquélla, se hacen las células más alargadas y más planas, estando los núcleos, que también se alargan, muy distanciados unos de otros.

2.—Primera región del testículo

Está formada esta parte, como indicamos anteriormente, por vesículas que contienen células sexuales en distintos grados de su evolución. Se forman estas vesículas de la siguiente manera.

Vesículas de espermatogonias de primer orden. — Las espermatogonias de la lacinia pulmonar se dividen repetidas veces, aumentando el número de las contenidas en un nido; pero disminuye su tamaño y haciéndose su núcleo cada vez menos polimorfo, más redondeado. Esta división tiene lugar, principalmente, a últimos de invierno y principios de primavera; a causa de este aumento del número de espermatogonias, se verifica un crecimiento muy marcado del volumen del nido.

En los nidos situados en el punto de unión de la lacinia pulmonar con la primera región del testículo, los núcleos de las células foliculares, que anteriormente estaban situados de preferencia hacia la periferia del nido, cambian su posición, e introduciéndose entre las espermatogonias, se colocan algunos en el centro de aquél, formando un grupo de ellos donde antes no había sino protoplasma. A pesar de este cambio, las espermatogonias, que son ya algo menores y tienen núcleo redondeado, no polimorfo, siguen estando completamente envueltas por dichas células foliculares, y cada una con independencia de las demás.

Una vez dispuestas las células como acabamos de indicar, empieza a formarse un espacio vacío entre los núcleos foliculares que ocupan el centro del nido, espacio que cada vez se hace mayor, separándolos unos de otros; al mismo tiempo, las espermatogonias se disponen con los folículos hacia la envoltura conjuntiva del nido, que se transforma de este modo en una vesícula, cuyas paredes están formadas por el conjuntivo, y que contiene una capa de espermatogonias, envueltas cada una en su folículo propio; el centro de la vesícula está ocupado por un gran espacio vacío (fig. 17).

Esta vesícula sigue en relación con el mismo canalículo deferente que estaba unido al nido de donde procede; los canalículos deferentes pueden verse circulando por entre las vesículas de esta parte del testículo. En el punto en que una de ellas se une con su canalículo correspondiente, se observan siempre una o dos espermatogonias mayores, con núcleo polimorfo, análogas a las de la lacinia pulmonar; no son sino alguna de aquellas espermatogonias contenidas en el nido de donde procede la vesícula, cuya evolución ha quedado paralizada mientras se efectúa la de sus compañeras; son las llamadas por Nussbaum (1906) *Restspermatogonien*, *espermatogonias residuales*.

Al aumentar el número de espermatogonias, y, sobre todo, al formarse y crecer el espacio central, el volumen de la vesícula se hace mucho mayor; el conectivo que envolvía anteriormente al nido, al tener que rodear un volumen mayor, aumentando en superficie, disminuye en espesor, y el espacio por él ocupado entre vesícula y vesícula, se hace cada vez más pequeño, hasta el punto de llegar las vesículas a estar casi en contacto, separadas tan sólo por una estrecha lámina de conjuntivo formada por la reunión de las paredes de ambas. Por la presión de unas vesículas contra las otras, adoptan formas poliédricas, en vez de las redondeadas que poseían los nidos.

En los puntos donde se reúnen varias vesículas, se forman islotes donde el conectivo es más abundante; lo mismo ocurre

en los sitios por donde pasan capilares sanguíneos o canalículos deferentes, que siguen envueltos en gruesas cubiertas de conjuntivo.

Estas vesículas que hemos descrito, son las llamadas *cistos,* por Meves (1897) en la *Salamandra,* palabra que rechaza Nussbaum (1906), pues parece hace suponer que sean cerradas, siendo así que están desde un principio en comunicación con un canalículo excretor, empleando para nombrarlas la palabra *ampollas;* Champy (1913) las llama *cistos primarios* en la *Salamandra* y *Triton,* suponiéndolas completamente cerradas y sin comunicación alguna con los canalículos deferentes.

Vesículas de espermatogonias de segundo orden.— Durante todo el período anteriormente indicado, hemos visto que las espermatogonias poseían cada una un folículo propio que las envolvía completamente, aislándolas de las demás. Cuando alguna espermatogonia de esta clase se divide por carioquinesis (Meves, 1897), ocurre, que las células que forman su folículo se insinúan entre las espermatogonias hijas, separándolas y formando un folículo nuevo, independiente para cada una de ellas. Esto ocurre durante repetidas divisiones, formándose un gran número de espermatogonias de este tipo; pero llega un momento en que, al dividirse una espermatogonia, las dos células hijas que resultan no son separadas por las células foliculares, quedando ambas encerradas en el folículo que envolvía a la madre. Este proceso se repite una porción de veces, formándose después de varias generaciones un gran número de células, todas iguales, procedentes de una sola y encerradas en el folículo de la espermatogonia madre.

A este grupo de células que proceden todas de una misma, le llama von la Valette Saint-George *espermogenne,* mientras que Flemming (1888) y Hermann (1889) lo llaman *espermatocisto,* describiéndolos envueltos en un folículo y colocados sobre la pared de los por ellos supuestos tubos. Nussbaum (1906) llama a este tipo de células *espermatocitos,* fundando la diferencia de és-

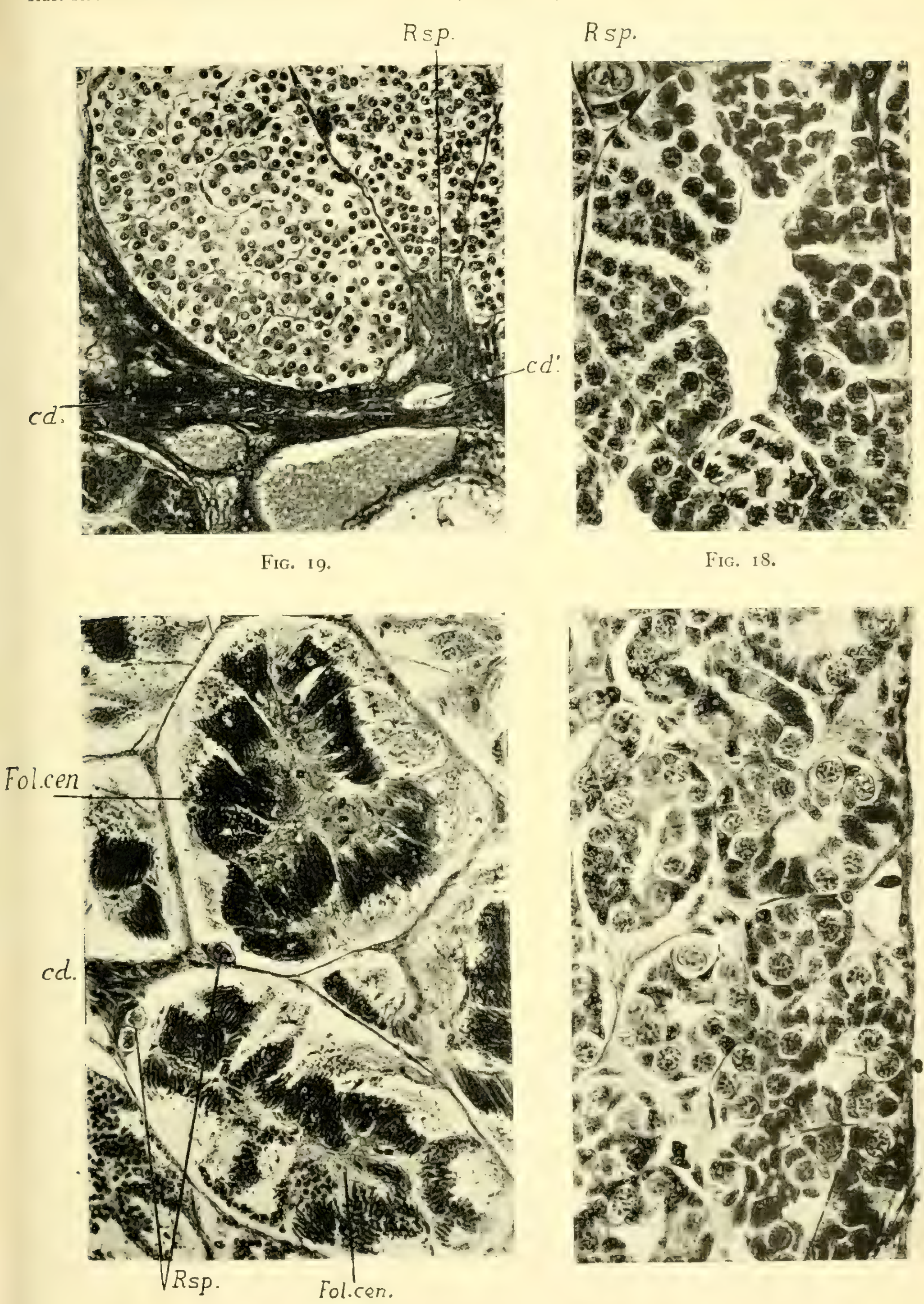


Fig. 19.

Fig. 18.

Fig. 20.

Fig. 17.

M. García Banús, fot.

tos con las espermatogonias, en los anfibios, en la existencia de una o varias células dentro de un folículo, llamándolas, en el caso en que hay una sola, espermatogonia, y desde el momento en que hay varias, espermatocitos; da preferencia a este carácter sobre el de haber sufrido el período de crecimiento, fundándola en que por la misma razón que se conserva el nombre de espermatogonias para las sucesivas generaciones, aunque disminuyen progresivamente de tamaño, no se debe dar tampoco importancia al carácter de aumentar de volumen, y no se debe cambiar de nombre a una clase de células porque sufra el período de crecimiento. Esto sería valedero si la transformación conocida por período de crecimiento, se limitara a un aumento de volumen; pero esto no es así, sino que dicho período de crecimiento es en realidad una larga profase nuclear que sirve de preparación a la célula, para verificar la reducción cromática en las mitosis que por su carácter especial llamó ya FLEMMING mitosis *heterotípicas;* creo, pues, que se debe reservar el nombre de espermatocitos, en los anfibios como en los demás animales, a las células que han sufrido el período de crecimiento, y que al dividirse, lo hacen por medio de las mitosis de reducción.

La diferencia de haber una o varias células en un mismo folículo, que realmente es muy importante, como indica NUSSBAUM, se señala ordinariamente, denominando a las células espermatogonias de primero y segundo orden respectivamente.

En la figura 18 está representada una vesícula con espermatogonias de segundo orden; están dispuestas en varios grupos, los *espermogennes*, envuelto cada uno en un folículo particular; hay tantos grupos de éstos en una vesícula, como espermatogonias de primer orden había primitivamente en ella; los folículos han aumentado extraordinariamente, y comprimiéndose unos con otros toman formas casi de tronco de pirámide; sin embargo, persiste todavía la cavidad, ocasionando el aumento de los folículos solamente un aumento correspondiente en el volumen de

la vesícula. Estas siguen en comunicación con los canalículos, existiendo en el punto en que éstos desembocan, las espermatogonias que no han evolucionado (espermatogonias residuales) una de las cuales (*Rsp.*) puede verse en la figura. También puede notarse cómo todas las células de uno de los folículos se encuentran al mismo tiempo en carioquinesis, debido esto a llevar una evolución paralela las células que proceden de la misma célula madre.

Vesículas de espermatocitos.—Queda, pues, el testículo en la zona de últimas generaciones de espermatogonias, constituído por grandes vesículas de tejido conjuntivo, que contienen células dispuestas en pequeños grupos, colocados sobre las paredes, dejando un espacio vacío, y envueltos cada uno independientemente en una cubierta de células foliculares. Las vesículas están en comunicación con un canalículo deferente, a cuya entrada se encuentran una o varias espermatogonias residuales.

Al sufrir las espermatogonias el período de crecimiento, transformándose en espermatocitos, aumentan bastante de tamaño, y otro tanto hacen los folículos que los contienen, los cuales acaban por llenar completamente la cavidad de la vesícula, que no crece en proporción, llegando a ponerse en contacto los folículos, produciéndose vesículas del tipo de las de la figura 19, en las que queda en el centro, en vez del espacio vacío de antes, un islote de protoplasma, formado por la reunión del de las células que formaban los folículos del lado de la cavidad central, que han llegado a ponerse en contacto, aunque sin fusionarse, notándose perfectamente los límites de cada folículo. Como podemos ver por la fotografía, siguen las vesículas en relación con un canalículo deferente (*cd.*); puede asimismo verse una espermatogonia de regeneración (*Rsp.*) a su entrada. Los espermatocitos de una de las vesículas se presentan en la fase de máxima contracción nuclear, que es tan intensa en esta especie, que la cromatina aparece en una masa compacta.

Vesículas de espermátidas.—Al final de la profase de los espermatocitos, se nota una variación en la disposición de las células en el interior de los folículos, variación que se hace mucho más intensa cuando, después de las dos divisiones de madura-

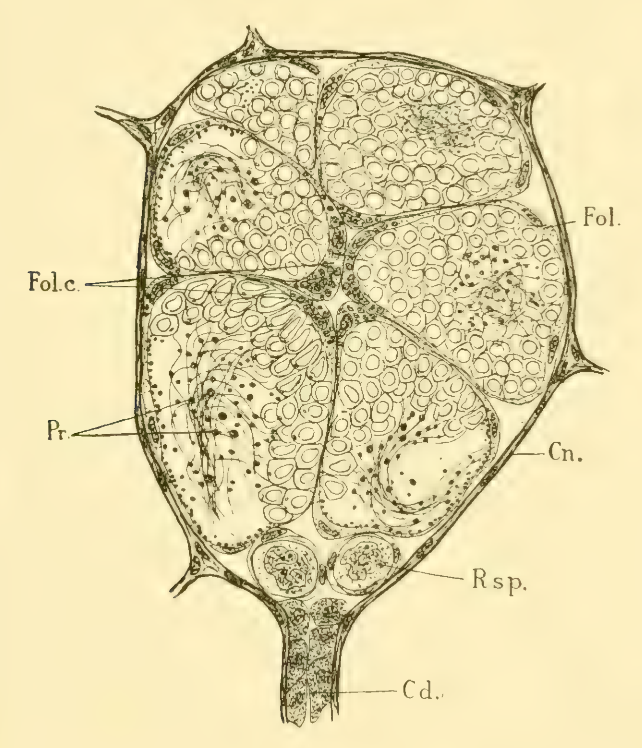


Fig. L.

Vesícula con espermátidas en transformación (semiesquemática): *Cd.* canalículo deferente; *Cn.* pared conjuntiva de la vesícula; *Fol.* células foliculares periféricas; *Fol. c.* ídem centrales con gotas de grasa; *Pr.* granos de protagón entre las colas de las espermátidas; *Rsp.* espermatogonias residuales envueltas en sus folículos propios.

ción, se originan las espermátidas. Durante toda la evolución, hasta este momento, los folículos han sido completamente macizos, ocupando las células todo el contenido de ellos, sin dejar ningún espacio, estando más bien comprimidas unas contra otras. Pero, a partir de la fase de núcleos leptoténicos, los esper-

matocitos empiezan a separarse, aproximándose los que ocupan el centro del grupo hacia las células foliculares que lo envuelven; este movimiento, que en las espermátidas es más marcado, da origen a la formación de un espacio en el interior del folículo, vacío de células y situado excéntricamente, pues las células se acumulan en la proximidad de las del folículo, que recubriéndole primitivamente del lado de la cavidad central de la vesícula, han quedado ahora en el centro de ella (células foliculares centrales); el espacio vacío de células queda en la parte más periférica del folículo, separado tan sólo de la pared de la vesícula por las células foliculares periféricas. De esta disposición puede dar idea la fig. L, que representa algo esquematizada una vesícula de este tipo.

Está ocupado este espacio del interior del folículo por las colas de las espermátidas que ya empiezan a formarse, sumergidas en un líquido, probablemente albuminoideo, que al coagularse por los reactivos da origen a un retículo grosero, en el que quedan aprisionadas aquéllas acompañadas de unas gotas de substancia muy refringente (*Pr.*), que se colorea intensamente por la hematoxilina de hierro y otros colorantes cromatínicos, probablemente un protagón; esta disposición es igual a la descrita por Flemming (1888) en los llamados por él espermatocistos, al formarse los espermatozoides, correspondiendo el protagón a la llamada por él *substancia cromatófila.*

Vesículas de espermatozoides en formación.— Una vez dispuestas las células como indicábamos más arriba, principia la *espermiógenesis* o transformación de las espermátidas en espermatozoides.

El núcleo de aquéllas se coloca hacia la parte de la célula más próxima a las células foliculares centrales (*Fol. c.*, fig. L), mientras el protoplasma, y con él el centrosoma, del cual arranca el filamento de la cola, se dirige hacia el lado del espacio que quedó en el interior del folículo.

La célula se alarga entonces, transformándose en espermato-

zoide (*spz.* fig. 16), que queda con su extremo anterior, donde está el acrosoma que ha de formar el *perforatorium*, sumergido en parte, en el protoplasma de las células foliculares centrales que, durante este período, hacen el papel de las células de SERTOLI en el testículo de los mamíferos; la extremidad del espermatozoide donde arranca la cola, se dirige hacia el espacio ocupado por ésta (*c. spz.*); fórmándose tantos grupos de espermatozoides como células del folículo han tomado la función de células de SERTOLI, que suelen ser dos o tres de las más centrales.

A causa de ésto y de la disposición de los espermatozoides, dentro del folículo, quedan éstos dispuestos en una figura radiada, a partir del centro de la vesícula ocupada por las células foliculares, con las colas dirigidas hacia las paredes, como puede observarse en la figura 20, donde están representadas dos vesículas de este período, una de ellas más avanzada, la otra con espermátidas de núcleo alargado; puede observarse la gran cantidad de protoplasma que poseen las células foliculares centrales (*Fol. cen.*) que ocupan una gran extensión del centro de la vesícula, alrededor del cual irradian los espermatozoides; también pueden verse numerosas gotas de la substancia cromatófila, que se encuentran entre las colas de las espermátidas y espermatozoides.

Ambas vesículas comunican por *c. d.* con un canalículo deferente, encontrándose a su entrada, como de costumbre, y siempre dentro de la vesícula, las espermatogonias residuales (*Rsp.*).

Al avanzar la formación de los espermatozoides, aumentan considerablemente en longitud, y para adaptarse al tamaño del folículo, se arrolla todo el grupo de los contenidos en uno de ellos, formando un paquete dispuesto en espiral, aunque sin perder relación con las células foliculares centrales. Esto ocurre al final del verano, cuando los espermatozoides llegan a la madurez, dando entonces a la parte del testículo que ocupan, el color blanco y aspecto característicos de lo que hemos descrito como segunda región del testículo.

Las celulas foliculares sufren, durante todo el período que

acabamos de reseñar, importantes cambios, para adaptarse a la función de células nutritivas de los espermatozoides y mientras desempeñan dicha función, de cuyos cambios, así como de los que sufren las células conjuntivas hemos de ocuparnos ahora.

Células foliculares.—Durante todo el período de multiplica-

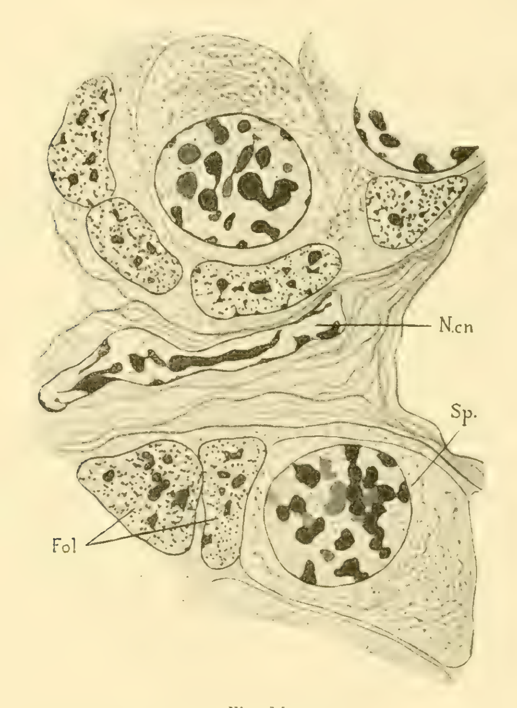


Fig. LI.

Porción de dos vesículas de espermatogonias de primer orden *(sp.)*. Células foliculares *Fol.* Núcleo de conjuntivo intervesicular *N. cn.*

Sublimado - formol - acético; verde Luz - Hematoxilina Heidenhain. Obj. 2 mm., oc. 18.: × 1700.

ción de las espermatogonias, las células foliculares sufren, relativamente, pocos cambios. Al formarse las vesículas de espermatogonias de núcleo redondo (fig. 17) con cavidad central, los núcleos de las células foliculares experimentan una marcada reducción de tamaño, y, sobre todo, un cambio de forma, haciéndose más delgados y aplastados para adaptarse a los intersticios

que dejan las espermatogonias entre sí. La reducción de tamaño se hace mucho más marcada en los folículos de espermatogonias secundarias, donde alcanzan solamente un tercio del tamaño primitivo; va acompañada esta reducción por un aumento, o por lo menos, una condensación de la cromatina, haciéndose los núcleos más coloreables. No pierden por esto su estructura característica (figura Ll), presentando el mismo retículo de linina con gránulos de cromatina; sin embargo, éstos son más gruesos, y presentan una tendencia más marcada a disponerse en grumos mayores.

El protoplasma de estas células, muy poco abundante, forma una fina capa que envuelve al grupo de espermatogonias; es algo más visible en la vecindad del núcleo, en donde suelen encontrarse granulaciones, más o menos dispuestas en cadenetas (quizás mitocondrias). No me ha sido posible ver centrosomas ni esferas en las células en reposo, siendo, sin embargo, visibles cuando se dividen por carioquinesis, si bien éstas son más escasas que en las células foliculares de la lacinia pulmonar.

Durante el período de crecimiento de los espermatocitos, los cambios sufridos por las células foliculares que los envuelven, son mucho más importantes que los hasta ahora señalados.

En los núcleos se reducen a un aumento de tamaño muy ligero, y en la cantidad de cromatina, sobre todo, dando lugar a los núcleos de los tipos representados en las figuras M y N, donde es muy abundante y está dispuesta en granos gruesos, en un retículo grosero, con unos cuantos grumos mayores dispuestos irregularmente.

En el protoplasma se nota, no sólo un aumento muy considerable en la cantidad que de él se encuentra, sino también la aparición de gran número de diferenciaciones e inclusiones, que hacen cambiar por completo su aspecto. Por lo que se refiere al aumento en cantidad, alcanza mayores proporciones en las células que forman el folículo del lado de la cavidad central (fig. L. *Fol. c.*), que en aquéllas que envuelven al grupo de células sexuales lateral o periféricamente, en contacto con la pared de la ve-

sícula. Es mucho más considerable cuando por crecimiento de los folículos, llega a desaparecer la cavidad central, y aquellas células entonces se reúnen con las de otros folículos en el centro de la vesícula (fig. 20, *Fol. cen.*), formándose un grupo de células con protoplasma muy abundante y numerosas inclusiones, que parecen tener un poder de atracción para las células sexuales.

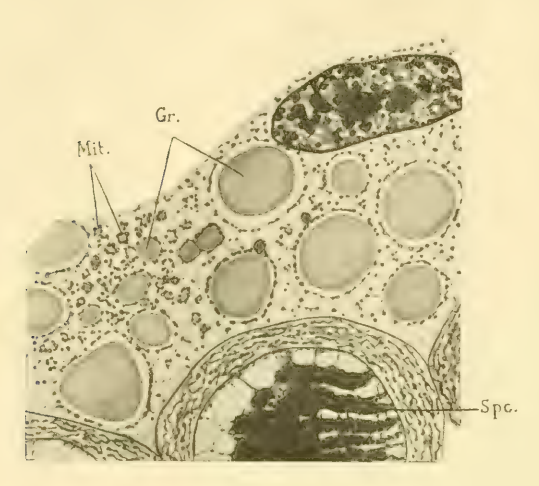


Fig. M.
Célula folicular central de un vesícula con espermatocitos. *spc.*, de núcleo leptoténico. *Gr.*, gotas de grasa con volumen algo disminuido por los reativos. *Mit.*, mitocondrias. FLEMMING-Hematoxilina HEIDENHAIN. Obj. 2 mm., oc. 18.: × 1700.

Entre las inclusiones de dicho protoplasma, lo que más llama la atención al primer golpe de vista, es la grasa, que se encuentra en gran cantidad en estas células. Aparece, por primera vez, en el protoplasma de las que envuelven las últimas generaciones de espermatogonias, en forma de pequeñas gotitas, que van creciendo y aumentando en número hasta formarse en cantidad considerable.

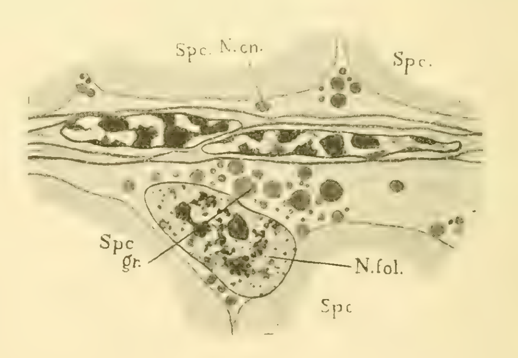


Fig. N.
Porción de dos vesículas de espermatocitos. *N. cn.* núcleos de tejido conjuntivo. *N. fol.*, núcleo de célula folicular. *gr.*, gotas de grasa. *Spc.*, espermatocitos. BOUIN, Método de PRENANT. Obj. 2 mm., oc. 18.: × 1700.

Al principio, sólo tiene lugar en las células foliculares que

hemos llamado centrales (fig. M); pero más tarde aparece también, aunque en menor proporción, en las células periféricas (fig. N), y, por último, hasta en el protoplasma que las células foliculares envían entre las sexuales.

Alcanza el máximo la acumulación de grasa, desde el final de la profase de los espermatocitos hasta las divisiones madurativas; dicho máximo lo es tanto por el número de gotas de grasa que se encuentran entonces en todas las células foliculares, como por el tamaño considerable que alcanzan, llegando a poseer 8 a 10 μ de diámetro.

A partir de las divisiones madurativas, se nota una desaparición progresiva de la grasa acumulada en las células foliculares; en la fase de espermátidas alargadas, todavía se encuentran gotas en bastante cantidad, sobre todo en las células centrales, pero al fin de la espermiogénesis han sido reabsorbidas por completo.

Parece coincidir la reabsorción de la grasa, con la aparición, entre las células sexuales y en el espacio que dejan luego éstas dentro del folículo, de una substancia que se colorea intensamente por la hematoxilina de Heidenhain y otros colorantes nucleínicos, y que se presenta como gruesos gránulos o gotas muy refringentes, los gránulos cromatófilos de Flemming.

Se encuentra esta formación, por primera vez, entre los espermatocitos, al final de la profase, cuando empiezan a separarse para formar el espacio que luego ocupan las colas de las espermátidas, coincidiendo con el máximo de la acumulación de la grasa. Se presentan, entonces, como pequeños gránulos, situados entre los espermatocitos, y adosados a la pared de éstos; con la hematoxilina de Heidenhain se colorean intensamente de negro, pero con el método de Wilson (safranina—verde Luz), se tiñen en este momento claramente en verde. Cuando avanza la evolución, formándose las espermátidas, aumentan en número y en tamaño, situándose en gran cantidad entre las colas de las espermátidas, presentándose como gruesas gotas, que pronto, en las preparaciones teñidas por el Wilson, presentan en el centro el color

rojo, debido a la safranina, coloración que va haciéndose más fuerte, hasta quedar toda la gota de un color rojo intenso, con una delicada cubierta verdosa; esto ocurre en folículos con espermatozoides ya casi formados, donde ha desaparecido la grasa por completo. Con la hematoxilina de HEIDENHAIN, se tiñen siempre intensamente de negro.

En el protoplasma de estas mismas células, en preparaciones coloreadas por la hematoxilina HEIDENHAIN, en material fijado por el FLEMMING, se observa la existencia de numerosas granulaciones, ya aisladas o reunidas en grupos; es probable sean mitocondrias, siendo notable (fig. M) su disposición alrededor de las gotas de grasa; sobre todo de las pequeñas, a las que rodean completamente, formando a modo de una corona de gránulos que al crecer la gota se disocia.

En los folículos de espermátidas, los núcleos de las células presentan pocas diferencias con los ya descritos; la estructura (fig. O) es igual; tienen un tamaño algo mayor, y presentan en los cortes dos tipos, unos aplastados (*N. fol.*) y otros grandes, ovalados; son, indudablemente, los mismos núcleos que, teniendo una forma aplastada de disco, presentan el primer aspecto, vistos de perfil; esta forma es debida a la gran extensión que han tomado las células, teniendo que recubrir al grupo de espermátidas de volumen mayor que el del grupo anterior de esperma-



Fig. O.

Vesícula de espermátidas. Punto de contacto de dos folículos. *N. fol.*, núcleos de las células de folículo. *Spd.*, espermátidas. *Pv.*, pared conjuntiva de la vesícula. BOUIN—método de PRENANT. Obj. 2 mm., oc. 18.: × 1700.

tocitos. En el protoplasma vemos mayor abundancia en las células centrales, en cuya vecindad se acumulan las espermátidas para su transformación en espermatozoides; la grasa es muy escasa, estando pronto limitada a las centrales; en cambio son numerosas las granulaciones coloreables por hematoxilina de hierro, en material fijado con Flemming (mitocondrias?).

A partir de este momento en que principia la transformación de las espermátidas, las células foliculares toman el papel de células nutridoras de los espermatozoides en formación, sufriendo para ello cambios muy intensos.

En los núcleos se observa que el retículo se ha hecho más claro, siendo en él mucho menos abundantes los gránulos de cromatina; en las preparaciones coloreadas por la mezcla triácida, se apercibe la gran abundancia de gránulos teñidos en rojo por la fuchsina, mientras que los gránulos cromáticos, coloreados en verde, son más escasos; la coloración de los núcleos es, pues, más clara y rojiza que la de los de folículos anteriores.

El protoplasma de las células foliculares centrales (fig. 16, *fol'.*), que son las que desempeñan la función de células nutridoras, se distingue más aún del de las demás células, que en los casos hasta ahora estudiados, por su abundancia, y, sobre todo, por la gran cantidad de diferenciaciones e inclusiones que contiene.

Se extiende el protoplasma de dichas células por entre la extremidad anterior de la cabeza de los espermatozoides, que quedan de este modo, en parte, envueltas por él (figs. 16 y P); cuando se forma el *perforatorium* queda éste sumergido en el protoplasma y en la proximidad del núcleo (fig. Q, *Per.*).

Las diferenciaciones que se observan en el protoplasma son de dos tipos: uno de ellos lo forman granulaciones incluídas en el retículo protoplásmico, y por tanto, partes vivas (fig. P, *Mit.*), que se colorean por el Heidenhain en el material de Flemming, y se presentan solas o agrupadas en cadenetas cortas; hay además granos mayores, coloreados por el verde luz, no habiendo

podido determinar si se encuentran en el retículo o son ajenos a él; frecuentemente aparecen reunidos en gran número en un punto de la célula con las granulaciones coloreadas por la hematoxilina, formando una especie de *Nebenkern* (fig. 16 *N. K.*).

El segundo tipo de diferenciaciones tiene más bien el carácter de inclusiones, o de productos del protoplasma, pues no se

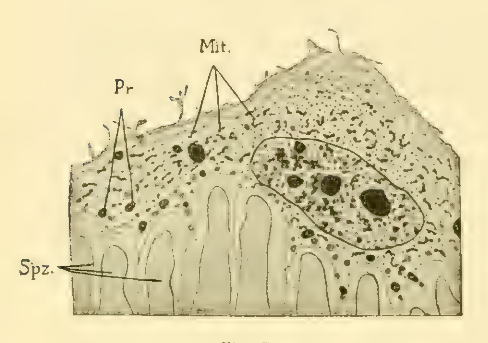


Fig. P.

Célula folicular central de una vesícula de espermatozoides en formación. *Spz.*, extremidad de la cabeza de los espermatozoides. *Mit.*, mitocondrias. *Pr.*, granos de protagón. FLEMMING, verde luz, hematoxilina de hierro. Obj. 2 mm.; oc. 18.: × 1700.



Fig. Q.

Célula folicular central de una vesícula con espermatozoides recién formados. Sublimado-formol-acético; mezcla tricrómica. *Per.*, *perforatorium* de los espermatozoides. Obj. 2 mm.; oc. 18.: × 1700.

encuentran en el retículo, sino en vacuolas. Entre ellas obsérvase la grasa ya citada, que aún existe, aunque ya muy escasa, y pronto desaparece por completo, y las bolas o gotas de la substancia cromatófila (figs. 16 y P, *Pr.*), que se encuentra en el protoplasma de todas las células foliculares, tanto en las centrales como en las periféricas, en la proximidad de los espermatozoides especialmente, y con más abundancia entre las colas de éstos.

Una vez formados los espermatozoides, en el período de su maduración y posteriormente, los cambios que experimentan las células foliculares, tienen los caracteres de una evolución regresiva.

Los núcleos pierden sus contornos regulares, apareciendo en ellos arrugas (fig. Q) las cuales, haciéndose más grandes, se transforman pronto en hendiduras o grietas (fig. R); otros se hinchan

extraordinariamente, tornándose su contenido más claro. La cromatina es cada vez más escasa, presentándose tan sólo raros gránulos, débilmente coloreables, siendo en cambio muy abundantes las granulaciones teñidas por la fuchsina. Presenta varios nucleolos grandes, pálidos.

El protoplasma aparece como hinchado, con grandes vacuolas y con un retículo más grosero, con mallas grandes; han desaparecido las granulaciones del retículo, coloreables por el HEIDENHAIN, persisten sin embargo, las que lo son por tinturas plasmáticas; lo que más abundan son bolas, más o menos grandes, con carácter marcado de inclusiones y coloreables también por tinturas plasmáticas; la grasa ha desaparecido por completo; el aspecto del protoplasma, como de hinchado y vacuolado, es común a todas las células foliculares de esta región; pero las centrales se caracterizan por la mayor abundancia de inclusiones, y sobre todo, por contener gran cantidad de espermatozoides fagocitados y en vías de ser digeridos.

Siguen encontrándose entre las colas de los espermatozoides numerosas bolas de protagón, que ya no se encuentran en el protoplasma de las células foliculares; son más pequeñas y retienen más débilmente a los colorantes.

En este estado, siguen los espermatozoides en relación con las células foliculares centrales, teniendo su extremidad anterior, *perforatorium*, sumergida en su protoplasma.

Durante toda la evolución, a partir de los folículos de las últimas generaciones de espermatogonias, no se encuentra ningún caso de carioquinesis en las células que los forman; el aumento de tamaño de los folículos tiene lugar haciéndose las células más grandes y aplastadas, y separándose, por tanto, los núcleos, unos de otros.

Tejido conjuntivo.—El tejido conjuntivo de esta región del testículo es mucho menos abundante, con relación a las células sexuales y foliculares, de lo que era en la lacinia caudal. Podemos formarnos idea clara de ello, comparando las distintas partes de

la fotografía fig. 12, así como las figs. 13 y 14 con las 17 a 20.

Sigue formando el conjuntivo las paredes de las vesículas, y llenando el espacio que dejan entre sí; pero como estas se hacen muy grandes, relativamente a su tamaño primitivo, al tener que cubrir un volumen mayor, disminuye el conjunto en espesor; al mismo tiempo, el espacio entre dos vesículas decrece considerablemente, quedando reducido a una delgada lámina, en la que no se distinguen las dos cubiertas en contacto.

Solamente es algo más abundante el conjuntivo en los puntos de reunión de varias vesículas, donde se acumulan algunas

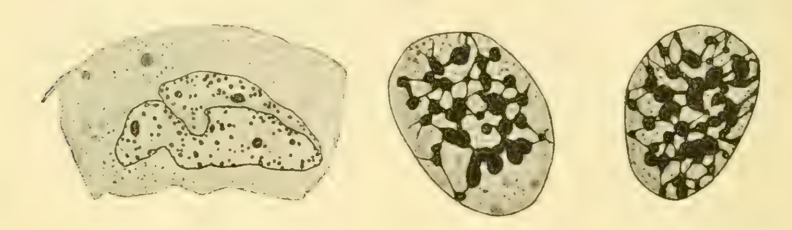


Fig. R. Fig. S.

Célula folicular (fig. R) y núcleos de tejido conjuntivo (fig. S), de una vesícula con espermatozoides completamente formados. Bouin; método de Prenant. Obj. 2 mm.; oc. 18.: × 1700.

células, y sobre todo, alrededor de los canalículos deferentes.

Las células conjuntivas no sufren, sin embargo, grandes modificaciones, como les ocurre, durante el mismo tiempo, a las foliculares; quedan aplastadas entre las fibras conjuntivas, siendo apenas visibles (figs. 16 y N), con muy escaso protoplasma alrededor de los núcleos.

Los núcleos conservan el mismo aspecto y estructura que los descritos en la lacinia pulmonar; en las vesículas con espermatogonias de primer orden (fig. Ll), donde el conectivo que las separa es aún relativamente abundante, son enteramente iguales a aquéllos, con figuras alargadas, acordonados, y la cromatina dispuesta en fragmentos irregulares situados sobre la membrana y que se reúnen unos a otros por prolongaciones; cuando el conectivo entre las vesículas se hace muy escaso y las células se

aplastan, los núcleos quedan también comprimidos, presentando vistos de frente, figura elíptica, casi circular, y vistos de perfil, el aspecto presentado en las figs. 16 y N; pero la disposición de la cromatina es la misma que anteriormente. Al final de la evolución de los espermatozoides, los núcleos de las células conjuntivas sufren una ligera modificación en la disposición de la cromatina; vistos de perfil presentan análogo aspecto al de los de la fig. N; vistos de frente se presentan como los de la figura S, que están tomados de un corte tangencial de la pared de separación de dos vesículas con espermatozoides ya formados; se distinguen por la forma redondeada y disposición más regular de los grumos cromáticos, que siguen sin embargo, unidos por prolongaciones; poseen, además, numerosos gránulos coloreados por la fuchsina.

Es curioso comparar estos núcleos con el de la fig. R, tomado de una vesícula al lado de aquellos, del mismo período y en el mismo corte.

No se encuentran carioquinesis entre las células de esta clase.

Siguen siendo muy abundantes las fibras conjuntivas entre las vesículas; forman a cada una una verdadera pared propia, de fibras gruesas, sobre las que se apoyan los folículos en el interior; en la separación de dos vesículas no hay apenas espacio entre las paredes propias de ambas, estando recorridas por fibrillas paralelas, que se separan cuando encuentran alguna célula (fig. N), a la que rodean; pierden también el curso paralelo, cuando llegan a los puntos de reunión de varias vesículas, donde se distribuyen entre las células que allí se encuentran.

Cuando, por las condiciones del corte, puede observarse la pared propia de una vesícula vista de frente (que es cuando se ven los núcleos conjuntivos con figura elíptica o circular), se puede notar que está formada por un sistema de gruesas fibras, que van casi paralelas y se ramifican poco, cruzándose con otro sistema análogo, formando a modo de un enrejado o celosía; de una a otra fibra van otras más finas y ramificadas y de curso

sinuoso. También van fibras de una a otra pared propia de dos vesículas vecinas.

La pared propia de la vesícula, se continúa, como ya hemos dicho anteriormente, con la túnica conjuntiva que envuelve al canalículo deferente que de ella sale.

No se encuentran en ningún caso fibras conjuntivas en el interior de las vesículas, ni en las células foliculares, ni entre ellas; quedan siempre limitadas al exterior de la pared propia.

3.—La segunda región del testículo

Esta región, que hemos distinguido exteriormente por su color brillante, contiene los espermatozoides ya completamente formados, que permanecen en ella durante todo el invierno para ser empleados a la primavera siguiente.

En ella alcanza el testículo su mayor diámetro, que ha ido aumentando progresivamente desde la lacinia pulmonar y disminuye bruscamente en la región siguiente.

Se origina en el final del verano y principio del otoño, al terminar la evolución de los espermatozoides, que se estaban formando durante la estación anterior, en la primera región del testículo; queda aislada de ésta por una zona de vesículas cuyo contenido ha degenerado, y en las que se desarrolla el tejido conjuntivo abundantemente.

Está constituída, como la parte más posterior de la región anterior, por grandes vesículas de paredes delgadas formadas por conjuntivo, conteniendo varios folículos que las ocupan por completo; cada folículo contiene un paquete de espermatozoides, que está arrollado sobre sí mismo por su gran longitud. El tamaño de las vesículas es el mismo que el de aquellas de la región anterior que contenían espermatozoides en formación, y es el máximo que alcanzan en su evolución.

Las vesículas siguen estando en relación con los canalículos deferentes, que circulan en gran número por entre ellas; a su en-

trada se ven siempre, dentro de la vesícula, las espermatogonias residuales. También se encuentran numerosos vasos entre las vesículas.

Se nota en los testículos de fin de invierno, que las paredes de las vesículas más posteriores son mucho más gruesas y con conjuntivo más abundante; además, en alguna de éstas, la disposición en folículos ha desaparecido, estando revueltos todos los espermatozoides de la vesícula con los restos de las células que los formaban.

Células foliculares.—Se nota en las que se encuentran en esta región los mismos caracteres de degeneración que marcábamos para las de las últimas vesículas de la región anterior, pero mucho más acentuados. Siguen formando folículos cerrados, que ocupan por completo el contenido de las vesículas, y envuelven cada uno a un paquete de espermatozoides.

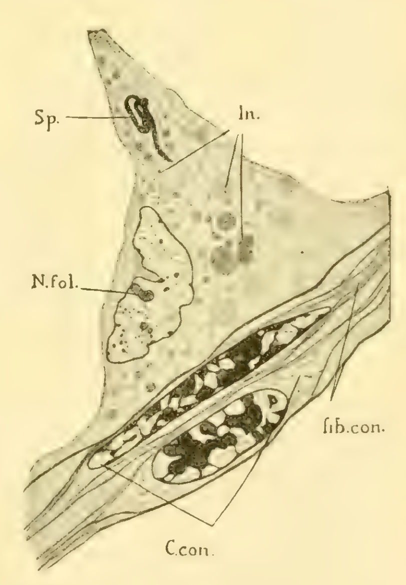


Fig. T.

Célula folicular y células conjuntivas *(C. con.)*, de una vesícula de la región segunda en un testículo de invierno. *N. fol.*, núcleo de la célula folicular. *In.*, inclusiones en el protoplasma de la misma. *Sp.* espermatozoide fagocitado; *fib. con.*, fibras conjuntivas. Sublimado - formol-acético, verde luz., hematoxilina de hierro. Obj. 2 mm.; oc. 18.: × 1700.

Los núcleos se presentan arrugados, con grandes grietas o hendiduras que casi los fragmentan; en las preparaciones de material fijado por formol, tienen análogo aspecto al representado por CHAMPY para los de *Salamandra* y *Triton* (1913, figuras XCV y XCVI). La cantidad de cromatina ha disminuído visiblemente, encontrándose escasos gránulos coloreados; en cambio, son muy abundantes los gránulos tenidos por la fuchsina,

empleando la mezcla triácida. Este aspecto es común a los núcleos de las células foliculares centrales y a los de las periféricas que están en contacto con la pared de la vesícula (fig. T, *N. fol.*).

En el protoplasma son también características las señales de degeneración; se presenta hinchado y con gran cantidad de vacuolas, que forman un retículo grosero, de mallas grandes y muy marcadas; han desaparecido por completo los gránulos contenidos en el retículo (mitocondrias, etc.); se encuentra, en cambio, gran cantidad de inclusiones *(In.)* que enturbian el protoplasma; es notable la gran cantidad de espermatozoides fagocitados (*Sp.*) que se hallan contenidos en una vacuola protoplásmica, rodeada de numerosas inclusiones.

Entre éstas hay multitud de granos de variado aspecto, teñidos por los colores plasmáticos, y, sobre todo, es más notable la existencia de numerosas bolas, grandes, contenidas en vacuolas, con estructura granulosa y que se tiñen intensamente por los colores protoplásmicos. Forman, a veces, grandes acumulaciones en las células foliculares centrales; se encuentran formaciones análogas entre las colas de los espermatozoides.

Tejido conjuntivo.—Sigue formando las paredes de las vesículas, que son aquí más gruesas que lo eran anteriormente; depende esto de un aumento en el tamaño de las células conjuntivas *(C. con.)*; éstas, que anteriormente apenas si se distinguían por ser muy aplastadas y estar comprimidas entre las fibras, se destacan ahora claramente; en el corte transversal de la separación de dos vesículas (fig. T) se encuentran siempre, por lo menos, dos células. El grosor de las paredes de las vesículas es más acentuado en las más posteriores, y sobre todo, en aquellas en que los espermatozoides están revueltos en su interior.

Los núcleos de las células conjuntivas presentan el mismo aspecto y forma que los descritos para las vesículas de espermatozoides en formación; en algunos se nota una tendencia a perder la forma de discos, haciéndose más elípticos. El protoplasma de estas células, que ya es más visible, especialmente alrededor

del núcleo, presenta un fino retículo con numerosas granulaciones.

Son mucho más abundantes las fibras *(fib. con.)* de lo que habían sido hasta ahora; en las secciones transversas, en la separación de dos vesículas se notan, además de las membranas propias de ambas, cuya estructura es análoga a la descrita anteriormente, numerosas fibras que se encuentran entre ellas y que circulan entre las células, a las que rodean. Como siempre, es más abundante el conjuntivo alrededor de los canalículos deferentes, cuya pared propia se continúa con la de la vesícula.

Al final del invierno, y durante la primavera, se vacían de espermatozoides las vesículas de esta región, sufriendo una serie de cambios que la transforman en tejido glandular, y de los cuales nos ocuparemos en el capítulo siguiente al estudiar el origen de la tercera región del testículo.

4.—La región glandular

a.—**Origen y formación**

La tercera región que hemos distinguido en el testículo del gallipato está caracterizada, como ya dijimos, exteriormente por un color amarillo muy intenso, análogo al de los cuerpos adiposos de los anfibios, e interiormente por estar formada de células que contienen gran cantidad de gotas de grasa, a las que debe dicho color.

Se origina en el gallipato, análogamente a lo descrito por Champy en *Salamandra* y *Triton*, a expensas de las vesículas de espermatozoides, cuando éstas son expulsadas. Pero, como vimos en la parte primera del trabajo, no tiene una existencia temporal y corta como en aquellas especies, sino que es una formación permanente, encontrándose, con mayor ó menor desarrollo, en todas las épocas del año.

Además, coincidiendo con el carácter indicado por Schrei-

BER (1913) que posee el gallipato, de estar en celo durante gran parte del año, en contraposición a los demás urodelos, que sólo lo están un corto tiempo, la formación de la glándula no está limitada, como en éstos, a una determinada estación, sino que tiene lugar casi continuamente durante un largo período; sin embargo, existen dos épocas en que se verifica la producción de tejido glandular con más intensidad.

Una de ellas es la primavera, cuando se vacían las vesículas de espermatozoides que han permanecido en reposo durante todo el invierno, formando la segunda región del testículo. Ejemplo de ello lo tenemos en los testículos de abril (figs. 6 y 7); el primero, con una gran cantidad de vesículas vacías de espermatozoides (*gl. in.*) y con las paredes formadas por células con carácter glandular, y el segundo, en el que apenas quedan vesículas con espermatozoides.

La segunda época de formación intensa de tejido glandular, se verifica a fines de verano, a expensas de algunas vesículas de espermatozoides recientemente formados; de esta segunda época son ejemplos los testículos de septiembre y octubre (figs. 10 y 11), en los que vemos que la zona con vesículas vacías de paredes engrosadas (*gl. in.*) es muy extensa.

La figura 21 procede de la parte glandular intermedia de uno de estos testículos de septiembre; en ella vemos el tránsito de las vesículas con espermatozoides a aquellas que ya no los tienen, y cuyas paredes están formadas por células glandulares.

Tenemos, pues, que estudiar para conocer el mecanismo de esta formación: 1.°, la expulsión de los espermatozoides; 2.° las modificaciones que sufren las células foliculares, y 3.°, las que experimenten las células conjuntivas que forman la pared de la vesícula.

Expulsión de los espermatozoides.—En la segunda región del testículo continúan los espermatozoides encerrados en los folículos hasta el momento de ser expulsados, deshaciéndose entonces éstos y quedando revueltos con las células que los formaban

Fig. 22.

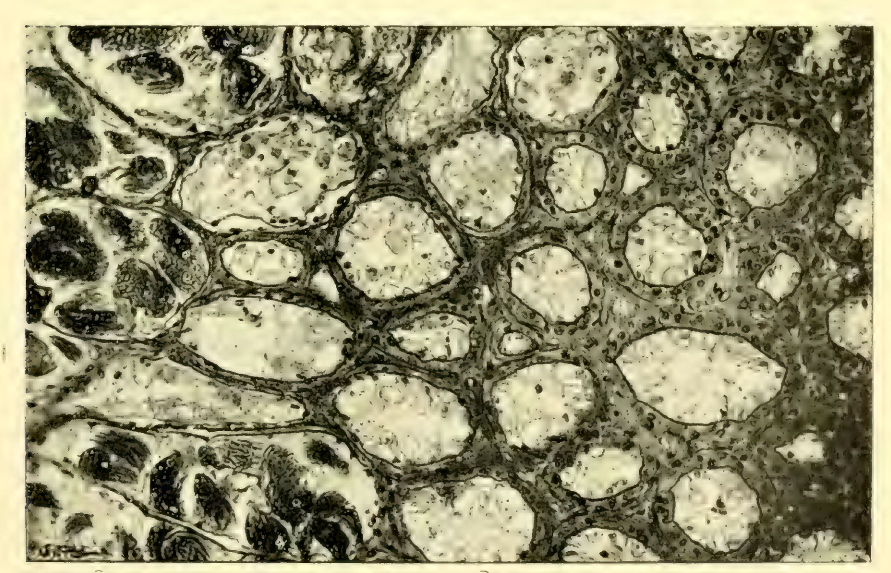


Fig. 21.

M. García Banús, fot.

(figs. 23 y 24); en las vesículas de este tipo puede notarse ya una modificación muy marcada en las células que forman su pared, que se ha hecho notablemente más gruesa.

Estas vesículas continúan en comunicación con canalículos deferentes (fig. 23, *cd.*), los cuales, así como los otros mayores en que desembocan (fig. 6, *C. d.*), se encuentran llenos por los espermatozoides procedentes de las vesículas que se vacían; en éstas se nota (fig. 23) cómo las paredes de aquellas que se han vaciado, son más gruesas, siendo mayores las células que las forman que en las que aun contienen espermatozoides; se observa, a la entrada de los canalículos deferentes en algunas vesículas, las espermatogonias residuales o de regeneración.

Después de la expulsión total de los espermatozoides, quedan en el interior de la vesícula algunas de las células que formaban los folículos (la mayoría son expulsadas al mismo tiempo que aquéllos, figs. 24 y 25, *fol.*); pero, al avanzar más la formación de la glándula, haciendo las cavidades de las vesículas más pequeñas, van siendo cada vez menos numerosas y acaban por desaparecer por completo (fig. 25).

En los testículos de septiembre (fig. 21), se conserva la disposición en folículos, aun después de la expulsión de los espermatozoides, quedando entonces vacíos, y deshaciéndose completamente más tarde; también se conservan más tiempo las células foliculares en el interior de las vesículas, pero finalmente desaparecen por completo en todos los casos.

Células foliculares.— La regresión iniciada en las células de los folículos de espermatozoides formados, y que anteriormente hemos estudiado, se completa y termina por una total degeneración al ser expulsados los espermatozoides que envolvían.

En las vesículas de la segunda región del testículo, las células foliculares formaban todavía una cubierta continua y cerrada alrededor del paquete de espermatozoides; antes de ser expulsados éstos, en la mayoría de los casos, las células foliculares re-

traen su protoplasma, dejan de estar reunidas unas con otras, se individualizan, y desorganizándose de este modo la cubierta, quedan mezclados los espermatozoides de los distintos folículos de una misma vesícula, entre sí y con las células que los formaban. Estas últimas pierden la relación que hasta ahora habían tenido con los *perforatorium* de los espermatozoides, que quedan libres por completo. Se disponen adheridas a la pared de la vesícula (figs. 21 y 24), formando un epitelio muy irregular, que pronto desaparece por desprenderse en masa (fig. 23), o quedando algunas células aisladas (fig. 25). En todos los casos se notan perfectamente las membranas de las células, que tienen forma globosa, estando perfectamente limitadas, lo que no ocurría cuando formaban folículos, en los que no se distinguen las separaciones de las células.

Los núcleos preséntanse con formas muy irregulares, arrugados, con grietas y hendiduras que casi los fragmentan; otros son mucho mayores, globosos y como hinchados; se encuentran masas de protoplasma sin núcleos, solamente con gotas de cromatina sin estructura y muy refringentes, o con núcleos en fases de degeneración; aun en los casos en que los núcleos conservan la estructura de tales, es notable en ellos la escasez de cromatina. En otros casos están reducidos a la membrana nuclear muy marcada, y conteniendo únicamente algunas gotas de cromatina; frecuentemente aparece una degeneración grasosa de la substancia nuclear, pues se ven núcleos con grandes gotas de grasa que, en parte, se colorean todavía por los colorantes de la cromatina.

En el protoplasma, las señales de degeneración son también muy marcadas; se presenta hinchado, con grandes vacuolas, que le dan un aspecto esponjoso (fig. 25, *fol.*); contiene gran cantidad de inclusiones de todas clases; entre ellas, son notables los espermatozoides fagocitados, que en gran número y en distintos grados de digestión se encuentran en estas células (*Salamandra*, CHAMPY); también se encuentran gotas de cromatina muy refrin-

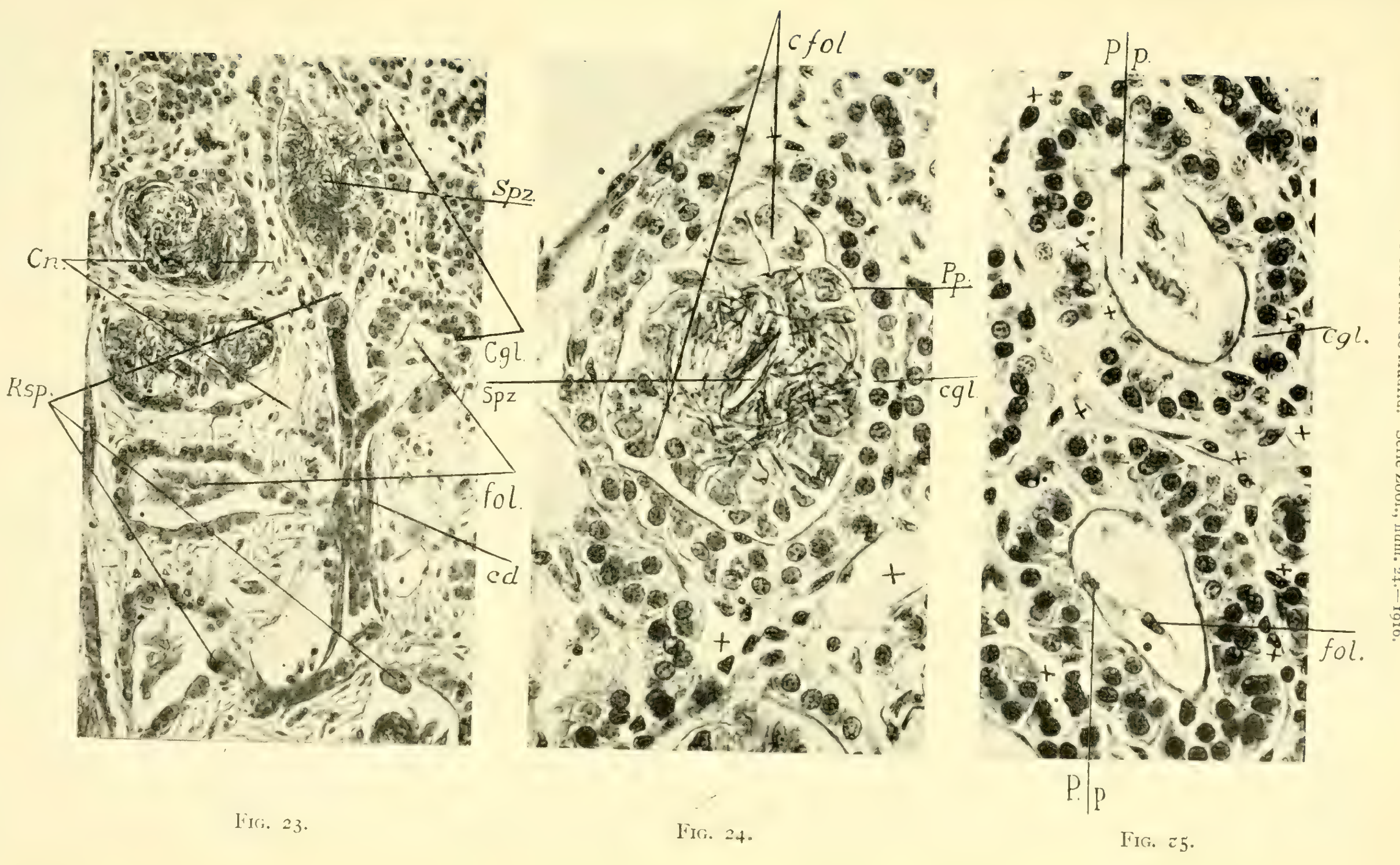


Fig. 23.

Fig. 24.

Fig. 25.

M. García Banús, fot.

gente, procedentes al parecer, de las cabezas de los espermatozoides fagocitados, o aun de los propios núcleos de las células; en muchas de estas gotas se nota una transformación en grasa; ésta, que como vimos había desaparecido completamente de las células foliculares al formarse los espermatozoides, es ahora muy abundante en ellas, y parece proceder, por lo menos en gran parte, de la digestión de los espermatozoides fagocitados; son también muy abundantes las inclusiones que se colorean por coloraciones plasmáticas, en forma de granos, bolas y masas irregulares. El protoplasma va haciéndose más escaso según avanza la formación de la glándula, si bien aumenta el volumen de la célula, haciéndose los contornos más marcados y el contenido más transparente, parece como disolverse; por último, desaparecen la mayoría de las células; solamente quedan algunas con el núcleo de escasa cromatina y el protoplasma irregular y como desgarrado en jirones. Algunas de estas células pueden conservarse, como por excepción, aun después de constituída la glándula por completo.

Transformación de las paredes de las vesículas.—Una vez expulsados los espermatozoides contenidos en la vesícula (testículos de septiembre, fig. 21), o poco tiempo antes, cuando ya han desaparecido los folículos (testículos de abril, figs. 23-25), se nota un aumento en el grosor de sus paredes y una modificación muy profunda en las células que las forman.

Estas, según vimos anteriormente, no eran sino células conjuntivas aplastadas, casi laminares, con protoplasma apenas visible, comprimido entre numerosas fibras conjuntivas. Constituían entre dos vesículas, en las regiones primera y segunda del testículo, una delgada lámina, en la que estaban unidas, y sin ser posible distinguir, las cubiertas propias de ambas.

Ya en las vesículas más posteriores de la región segunda de testículos de fin de invierno (fig. T), se nota un aumento en la cantidad de protoplasma que rodea al núcleo de las células conjuntivas, las cuales son más visibles, y se destacan en preparacio-

nes coloreadas por el método de Prenant, por estar teñidas por la eosina en rojo, mientras las fibras conjuntivas que las rodean lo están en verde.

Esto no ocurre en los testículos de septiembre (fig. 21) hasta después de expulsados los espermatozoides. Pero en todo caso se nota en seguida como empiezan las células conjuntivas a aumentar de tamaño, constituyéndose un sistema de células independiente para cada vesícula (figs. 21-25), separado del de dos contiguas por fibras conjuntivas; siendo mucho más marcada esta diferenciación, cuando, como en el caso de la figura 23 (testículo fig. 6), hay abundante conjuntivo entre las vesículas.

Quedan las células dispuestas en la pared de la vesícula, formando a modo de un epitelio, siendo casi cúbicas y colocadas en una sola capa (fig. 24, *cgl.*); en este estado es cuando se vacían las vesículas en los testículos de abril.

Están limitadas la células, interiormente, por una fuerte lámina de tejido conjuntivo, que destaca en todas la figuras *(P. p.)*, especialmente en aquellas impregnadas por el método de Achúcarro (figs. 30 y 31); no es otra cosa sino la pared propia conjuntiva de las antiguas vesículas, que al separarse por el aumento de volumen de las células y disminuir de extensión por reducirse la cavidad de la vesícula, se hace más gruesa, y, por tanto, más aparente. Separa claramente, en todo caso, las células glandulares del contenido de las vesículas (células foliculares que aun no han sido expulsadas) y se continúa, como en todos los casos, con la cubierta conjuntiva del canalículo deferente, que se abre en la vesícula (fig. 23).

Las células de la pared de la vesícula, que ya han perdido el carácter de células conjuntivas, adoptando más bien el de células glandulares, continúan creciendo, y no pudiendo hacerlo lateralmente, por estar comprimidas unas con otras, ni hacia el exterior, por impedirlo las vesículas vecinas, lo hacen hacia el interior, empujando la lámina interna de conjuntivo, que se hace más gruesa (fig. 25), y reduciendo la cavidad de la vesícula, apri-

sionando las pocas células foliculares que se conservan siempre separadas de ellas por la lámina de dicho tejido conjuntivo.

Adoptan las células en este momento, formas alargadas, casi paralepipédicas o de tronco de pirámide, que pierden, haciéndose irregulares al disponerse en varias capas en el espesor de la pared de la vesícula, cuando ésta ya es más considerable (figura 22).

El aumento considerable de las células, produce una reducción, cada vez mayor, de la cavidad interior de la vesícula, que acaba por desaparecer completamente, quedando en el lugar que que ocupaba un pelotón de fibras conjuntivas, procedentes de las que formaban la lámina interna, alrededor del cual se disponen radialmente las células glandulares.

Cuando la vesícula contiene alguna espermatogonia de regeneración (fig. 22, *R. sp.*), al cerrarse la cavidad por invasión de las células glandulares, quedan aprisionadas aquéllas, envueltas en la lámina de tejido conjuntivo, que no puede cerrarse completamente en este caso; el grupo de espermatogonias permanece invariablemente en relación con un canalículo deferente (figura 22).

En muchos casos, alguna de las espermatogonias de regeneración ha sufrido una evolución oviforme encontrándose uno o varios de estos óvulos en el centro de la vesícula; este caso es muy frecuente en el testículo de 15 de septiembre (fig. 10).

Posteriormente se pierde la disposición más arriba descrita, en vesículas o radialmente alrededor del pelotón conjuntivo (o grupo de espermatogonias), aislando el conjuntivo y los vasos capilares pequeños grupos de células (fig. 26), que tienen ahora formas redondeadas o irregulares; en este momento es cuando la acumulación de grasa ha llegado a su grado máximo, y cuando es más estable la grasa formada, pues tarda más tiempo en disolverse en las preparaciones montadas.

Queda terminada con esto la formación de la glándula, que más tarde sufre una regresión que hace desaparecer las células

glandulares, quedando sólo el tejido conjuntivo y las espermatogonias de regeneración.

b.—Anatomía microscópica de la glándula.

Debido a la manera de originarse la glándula, está ésta formada, en casi todos los casos, de dos partes de estructura marcadamente distinta.

Una de ellas, la más anterior, que hemos llamado zona glandular intermedia, está constituída por vesículas en comunicación con un canalículo deferente, y cuyas paredes están formadas de células glandulares, dispuestas en una o varias capas y limitadas interiormente por una lámina conjuntiva; en las vesículas más posteriores la cavidad ha desaparecido, quedando las células glandulares dispuestas radialmente alrededor de un pelotón de fibras conjuntivas o un grupo de espermatogonias de regeneración.

La parte más posterior de la glándula, está formada por grupos de células, de forma redondeada, y aislados por fibras de tejido conjuntivo, sin tener relación con ninguna cavidad ni con los canalículos deferentes. En cambio, es notable en esta parte la gran abundancia de capilares sanguíneos. Se encuentran entre los grupos de células de la glándula, pequeños nidos de espermatogonias de regeneración, que están envueltos por una fuerte cápsula de tejido conjuntivo, y en comunicación con un canalículo deferente.

La primera parte es más bien una zona de formación de la glándula; cada vesícula o cada grupo radial de células alrededor de un pelotón conjuntivo, está aislado de los demás por numerosas fibras y algunas células conjuntivas no modificadas, en algunos casos (fig. 23) muy abundantes; por entre este conjuntivo, y rodeando al grupo de células, circulan los capilares sanguíneos: figuras 24 y 25, marcados con una cruz.

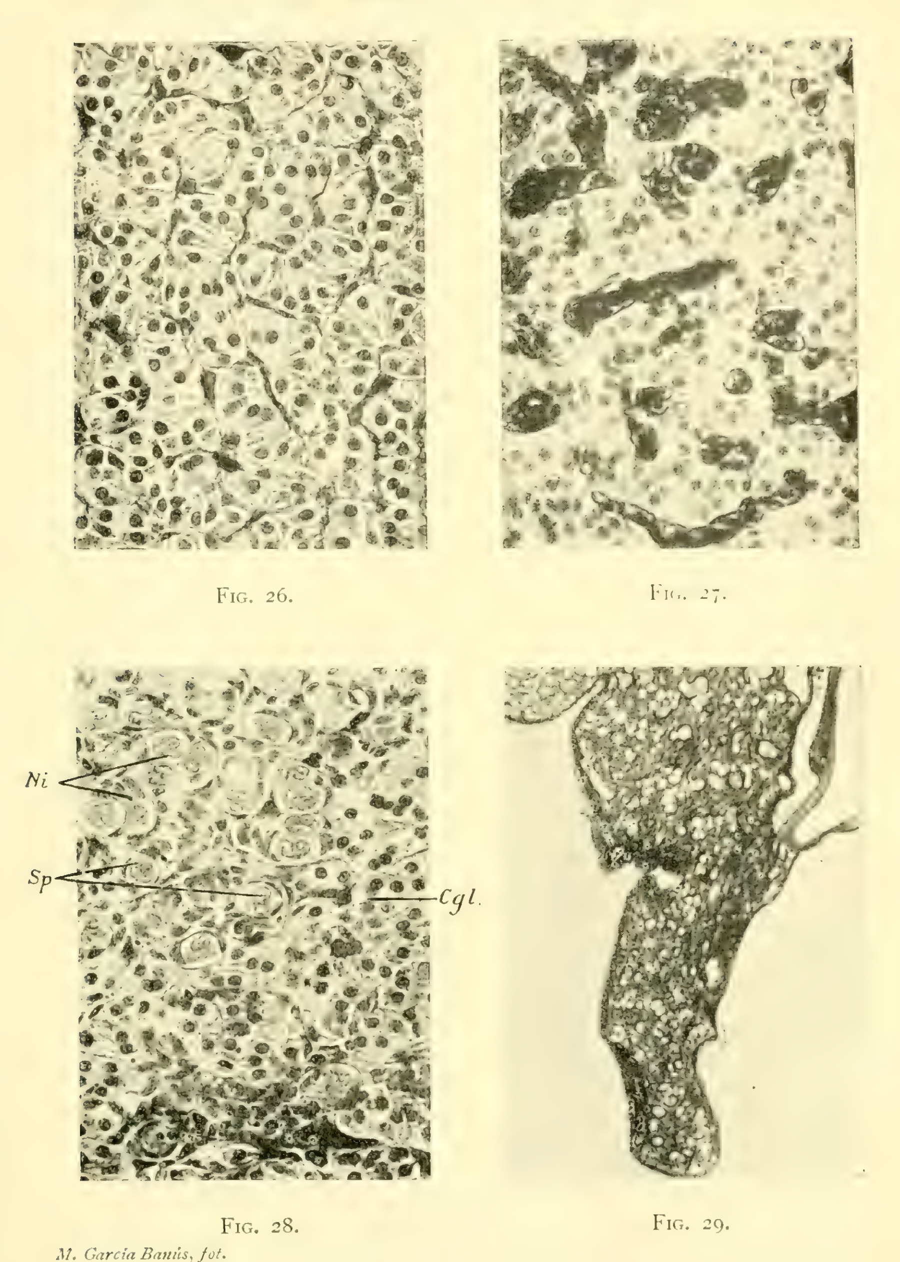


Fig. 26.

Fig. 27.

Fig. 28.

Fig. 29.

M. García Banús, fot.

De esta disposición de los vasos resulta que las células están, de un lado, en contacto con un capilar, y del otro, en relación con la cavidad de la vesícula, que comunica todavía con los canalículos deferentes.

En la segunda parte, como ya ha desaparecido la disposición en vesículas, los capilares sanguíneos y el conjuntivo ya no pueden estar dispuestos regularmente, como antes. El conjuntivo rodea a pequeños grupos de células (fig. 26).

Los capilares sanguíneos son muy abundantes y de curso sinuoso irregular (fig. 27), formando una red complicadísima y muy apretada; las células rellenan los espacios dejados por los capilares, de tal modo, que no hay célula que no esté en contacto con uno de ellos, por lo menos; a veces esta misma célula está en relación con dos de ellos; quedan dispuestas las células alrededor de los capilares, como indica la figura U.

El tránsito entre ambas zonas se verifica (fig. 22) penetrando los capilares, marcados (+) como anteriormente en el espesor de la pared de las vesículas, cuando éstas ya están formadas por varias capas de células, aislando el conjuntivo las células que rodean a dichos capilares.

Estudiaremos sucesivamente los distintos elementos que forman la glándula: 1.°, células glandulares; 2.°, tejido conjuntivo, células y fibras, y 3.°, las espermatogonias residuales con los canalículos a ellas unidos.

Células glandulares.—La forma, tamaño y contenido de estas células varía mucho, según la parte de la glándula en la que se las considere, dependiendo, como es natural, del proceso que hemos estudiado, de la formación de la glándula, y después, de su regresión.

Procediendo, como hemos visto, de las células conjuntivas que forman la pared de las vesículas, o se encuentran entre ellas, son al principio delgadas, largas, aplastadas; en las vesículas del tipo de la figura 24, tienen una forma casi cúbica (fig. V); posteriormente, cuando se produce el engruesamiento de las pa-

redes de las vesículas, toman formas paralepipédicas (figs. W y X), y, por último, al final de la evolución, tienen forma redondeada (fig. Y).

Varía también mucho el tamaño, como puede juzgarse por las figuras, debido solamente al aumento del protoplasma, que adquiere un tamaño considerable, con relación al del núcleo. En efecto, alcanza la célula un tamaño de 30 a 35 μ proximamente, en su mayor longitud, mientras el núcleo sólo cambia de forma, pasando de la discoidal aplastada a elipsoidea, y por último, a esférica casi perfecta, de 11-12 μ de diámetro.

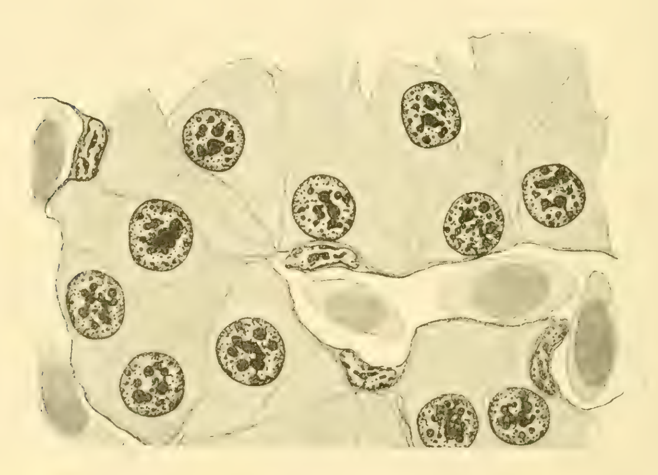


Fig. U.
Células glandulares, dispuestas rodeando a los capilares sanguíneos, en los que se ven algunos glóbulos rojos. El protoplasma no está representado. Sublimado.—Hematoxilina de hierro. Obj. 2 mm.; oc. 12.: × 800.

Los límites celulares son siempre claramente visibles, aunque a veces tengan las células formas irregulares, con ángulos bruscos entrantes, encajando unas en otras.

El núcleo sufre además variación en lo que se refiere a la disposición de la cromatina; en los núcleos planos discoideos, hemos visto cómo la cromatina está dispuesta en masas grandes redondeadas (figs. S y T), situadas en contacto de la membrana,

en las caras del núcleo, y unidas por trabéculas; en aquéllas, de forma ovalada, que corresponden a la zona glandular intermedia, está dispuesta en grumos laminares irregulares, y unidos por trabéculas, siendo más visibles los nucleolos, en número de uno ovarios, rodeados por cromatina (figs. V, y W), y por último, en los núcleos de las células glandulares, ya completamente formadas, que tienen forma esférica, está dispuesta en grumos redondeados, aislados en el centro, y adosados a la membrana nuclear; abundan en estos núcleos las granulaciones acidófilas; se encuentran también varios nucleolos.

En el protoplasma los cambios son mucho más intensos, dependiendo, sobre todo, de la acumulación en él de una gran cantidad de grasa, que es lo que caracteriza a este tejido.

Aparece la grasa al iniciarse la evolución de las células (fig. V), cuando éstas empiezan a ser visibles entre las fibras conjuntivas que las envuelven; puede estudiarse la formación en las preparaciones fijadas en líquido de Flemming, debiendo hacerse inmediatamente a su montaje, pues desaparece prontamente, por disolverse con gran facilidad en el bálsamo de Canadá.

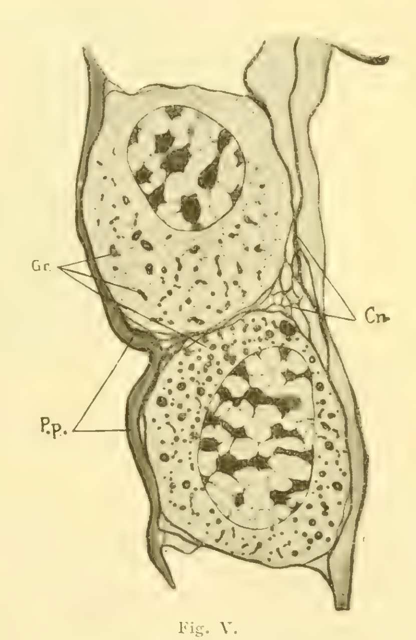


Fig. V.

Región glandular intermedia; células de la pared de una vesícula; formación de la grasa *(Gr.) P. p.*, pared propia de la antigua vesícula. *Cn.* conjuntivo. Flemming, método de Wilson. Obj. 2 mm.; oc. 18. : × 1700.

Se presenta entonces como pequeños gránulos aislados o reunidos en cadeneta, en bastoncitos o en forma de bizcocho, situados siempre en el retículo del protoplasma; pronto

aumenta su número, y sobre todo, el tamaño, tomando entonces el aspecto de gotas grandes, que llenan toda la célula (fig. W), dejando tan sólo entre ellas delgadas trabéculas de protoplasma, visibles cuando se disuelve la grasa (fig. X); al final de la evolución, las gotas son mucho mayores y dan al protoplasma un aspecto esponjoso (fig. Y); dejan siempre al lado del núcleo un pequeño espacio de protoplasma sin grasa, donde se encuentra la esfera y el centrosoma; este espacio no es claramente visible, sino después de disuelta la grasa; entonces puede estudiarse fácilmente la estructura del protoplasma.

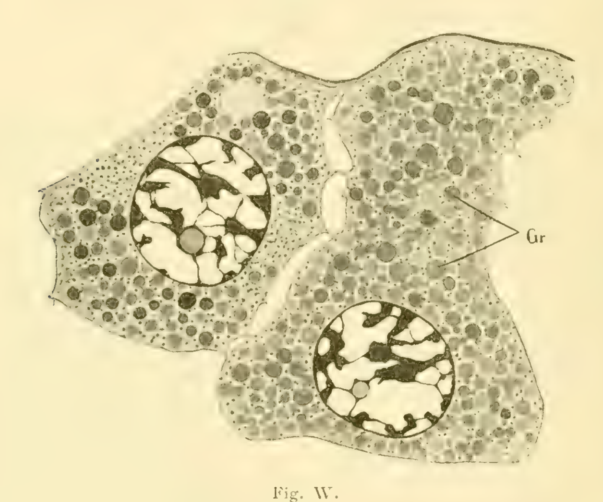


Fig. W.

Región glandular intermedia; células completamente desarrolladas, cargadas de grasa *(Gr.)*. FLEMMING-metodo de WILSON. Obj. 2 mm.; oc. 18: × 1700.

Es notable la afinidad de las trabéculas de protoplasma, dejadas entre las gotas de grasa, por la hematoxilina de hierro.

En preparaciones de material fijado con sublimado o ZENKER, y coloreadas por dicho reactivo, aparecen dichas trabéculas intensamente teñidas en negro; con otros fijadores y distintos colorantes, no se presenta el fenómeno con tanta claridad; pero puede, sin embargo, distinguirse algo análogo; así, en preparaciones fijadas con FLEMMING, y coloreadas por el método de WIL-

son, donde el protoplasma ordinario se colorea de verde, aparece el de las células glandulares con un color rojizo, debido a la safranina, con solamente un pequeño campo verde, cerca del núcleo, donde se encuentran los centriolos fuertemente teñidos de rojo.

Pero donde se puede estudiar mejor esta estructura, por pre-

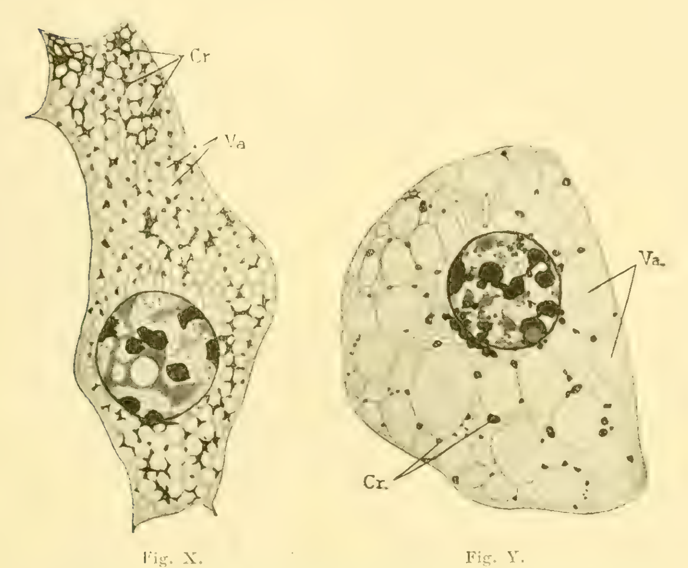


Fig. X. Fig. Y.
Células glandulares en dos grados diferentes de evolución, mostrando la substancia cromatófila (*Cr.*); *Va.*, vacuolas dejadas por la grasa al disolverse. Sublimado-formol-acético; hematoxilina de hierro-naranja G. Obj. 2 mm.; oc. 18. : × 1700.

sentarse más clara, es en preparaciones fijadas con sublimado y coloreadas por hematoxilina de hierro.

Se presenta ya muchas veces al principio de la evolución de las células glandulares, cuando empieza a organizarse el protoplasma alrededor del núcleo; pero, ordinariamente, es más tarde cuando aparece en las células del tipo de las figs. 24 y 25, en forma de gránulos pequeños, aislados, situados en las trabéculas protoplásmicas, frecuentemente en los nudos; aumentan pronto en número, y confluyendo unos con otros, dan un color negro

a todo el protoplasma, entre las gotas de grasa (fig. X, *Cr.*); en algunas células, todo el protoplasma sufre esta modificación; en otras, en cambio, sólo alguna parte de él, frecuentemente aquella que está más próxima a los capilares sanguíneos; siempre queda libre de esta formación, la parte del protoplasma que contiene los centriolos.

En las células de la parte más posterior de la glándula, que tienen forma redondeada, y la grasa deja al disolverse, solamente finas trabéculas de protoplasma, la estructura de que nos ocupamos se disocia, presentándose entonces solamente en forma de granos gruesos, aislados, en las trabéculas protoplásmicas o en los nudos de la red (fig. Y, *Cr.*), que van haciéndose cada vez más pálidos y acaban por desaparecer completamente.

En las preparaciones impregnadas por el método de Achúcarro, en las cuales se colorean perfectamente las mitocondrias (Cajal, 1914), aparecen, en el lugar de la formación antes indicada, numerosos gránulos, solos o reunidos en diplococos o bastoncitos.

Se encuentran algunos casos de células glandulares en división, siendo ésta por carioquinesis completamente normal; son, sin embargo, muy escasas.

Ya dijimos que, en ciertos casos, podía quedar alguna de las células foliculares sin ser expulsada; al deshacerse la disposición en vesículas, quedan entre las células sexuales, distinguiéndose, sin embargo de aquéllas por su núcleo irregular y arrugado, con poca cromatina; su protoplasma contiene también grasa, pero desde un principio, en grandes gotas, que dejan al disolverse un resto esponjoso, en el que nunca sé distingue la estructura ávida de hematoxilina de hierro. Sin embargo, este caso es sólo propio de algunos testículos y muy raro, siendo en la mayoría todas las células del tipo arriba descrito, y desapareciendo todas las células foliculares antes de terminarse la formación de la glándula.

Tejido conjuntivo.—Es muy abundante en esta parte del tes-

tículo, sirviendo para completar la unión de las células glandulares. Su disposición varía mucho, estando siempre en relación con la distribución, tamaño y forma de aquéllas.

Se encuentran formando este tejido distintas clases de elementos, cuales son: células conectivas, fibras colágenas y fibrillas de conectivo reticulado intercelular.

Las células conjuntivas son de un tipo enteramente igual al de las que formaban las paredes de las vesículas, o se encontraban entre ellas; no son sino algunas de aquellas que han conservado el carácter de células conjuntivas, mientras el resto de ellas se transforma en células glandulares, y que se encuentran entre estas últimas, sirviéndoles de lazo de unión.

Son todavía muy abundantes entre las vesículas de la región glandular intermedia, donde rellenan los espacios que aquéllas dejan; es notable, por este aspecto, el testículo de abril (fig. 6), donde hemos visto (fig. 23) que las vesículas de esta parte están separadas por una gran cantidad de conjuntivo; pero, en general (figs. 21, 24 y 25), el conectivo sólo forma estrechas láminas entre las vesículas.

Cuando la glándula está formada por completo y ha desaparecido la disposición en vesículas, las células conjuntivas son más escasas, limitándose a envolver, en parte, los grupos de células glandulares que se forman alrededor de los vasos capilares (fig. 26).

Son, en todo caso, más abundantes las células conjuntivas, alrededor de los canalículos deferentes, a los que forman una gruesa cubierta.

Estas células conjuntivas tienen el aspecto normal de tales, presentando formas alargadas, con prolongaciones ramificadas; los núcleos son delgados, sinuosos a veces, y con la cromatina análogamente dispuesta que en los representados en las figuras K, Ll y N, en gruesos grumos alargados, periféricos y reunidos por prolongaciones.

Fibras conjuntivas.—Son muy abundantes, pudiendo distin-

guirse, en general, dos clases: unas gruesas, coloreables por el verde luz y azul Lyon, las fibras colágenas; y otras finas, ramificadas, que aparecen más claramente con el método de ACHÚCARRO.

En las vesículas de la segunda región, por la delgadez de las paredes, que impide, como hemos dicho ya, distinguir las de dos próximas, no es tampoco posible distinguir una de otra clase de fibras.

Una vez que se han diferenciado las células de la pared de cada vesícula, se organizan dos sistemas de fibras gruesas, colágenas probablemente; uno de ellos, interior a las células glandulares, forma la lámina conjuntiva, que hemos descrito separándolas de las células foliculares, y que procede de la pared propia de las vesículas primitivas (figs. 30 y 31, *P. p.*). El otro sistema de fibras se encuentra entre las vesículas *(cn. in.)*, por entre las células conjuntivas que allí se encuentran, y que sirven para separar dos vesículas; este segundo sistema no forma una lámina, como el anterior, sino más bien una red complicada de fibras.

En este momento están, pues, constituídas las paredes de las vesículas por los siguientes elementos, considerados de dentro a fuera: la lámina conjuntiva interna; las células glandulares, primero en una sola fila, posteriormente en varias, y el sistema externo de fibras conjuntivas; este último es, al principio, común para dos vesículas en contacto; pero pronto se organiza uno propio para cada una, separados en muchos puntos, por los capilares sanguíneos que, según hemos visto, circulan entre las vesículas.

Entre las células glandulares, se encuentran numerosas fibrillas finas, perteneciendo al parecer al tipo de conjuntivo reticulado, pues se colorean intensamente en negro por el método de ACHÚCARRO; van de la lámina interna al sistema externo de fibras colágenas, encontrando a ambos en ángulo recto. Como las células glandulares tienen todavía poco tamaño, y ambos sistemas de fibras están muy próximos, el trayecto de las fibrillas es muy corto, siendo en general, completamente rectas y sin ramificar-

se (fig. 30); algunas tienen un curso más sinuoso entre las células o en tirabuzón, y otras que arrancan perpendicularmente de la lámina conjuntiva interna, se ramifican próximas al sistema externo, y dan lugar a un manojito de fibrillas que, incurvándose, rodean a las células conjuntivas por su extremo exterior, reuniéndose, por fin, a la red que forma el sistema externo de gruesas fibras.

Cuando crecen las células glandulares, la lámina conjuntiva interna es empujada por éstas hacia el interior, donde, como ya dijimos, pueden encontrarse algunas células foliculares en degeneración. Disminuyendo la cavidad, la lámina conjuntiva es cada vez menos extensa y más gruesa, desorganizándose en gruesas fibras muy apretadas (fig. 31, *P. p.*); esta invasión de la cavidad no se hace por todos los puntos con igual velocidad, perdiendo la lámina la figura circular o elíptica continua en los cortes, haciéndose irregular con ángulos entrantes.

En el sistema externo de fibras colágenas, se nota también un aumento considerable en el número de fibras, lo que hace más complicada la red que forman; las fibras de la red envolvente de una vesícula, se continúan con las de otra vecina, de la cual está separada, en la mayoría del contorno, por los capilares sanguíneos.

Por el crecimiento de las células, quedan más separadas la lámina conjuntiva interna y la red de fibras exterior o intervesicular, y, por tanto, las fibrillas intercelulares que van de una a otra, son mucho más largas y, al mismo tiempo, más finas, ramificándose más frecuentemente que antes, y siempre hacia el exterior, de modo que salen menor número de fibras de la lámina interna del que llega al sistema externo; adoptan una disposición radiada (fig. 31), que corresponde con la de las células glandulares, en esta parte. Su curso sigue siendo casi rectilíneo, ramificándose, ya cerca del sistema externo, en una pequeña arborización de fibrillas curvas, que rodea a las células por su extremo exterior y se unen después a la red intervesicular; no se observan extremos libres de fibrillas.

Durante este período, cuando la cavidad de la vesícula donde todavía pueden encontrarse células foliculares, se hace cada vez más reducida, se observa un fenómeno curioso de invasión del espacio ocupado por aquéllas, por el tejido conjuntivo fibrilar.

Empieza la invasión por unas fibrillas finas, procedentes del sistema de fibras que forma la lámina interna, y que, saliendo de dicha lámina, terminan en su extremidad libre, por una punta fina dirigida hacia el interior de la vesícula; estas fibrillas crecen rápidamente, sin perder su relación con la lámina conjuntiva, ramificándose e introduciéndose por entre las células foliculares que quedaron en la cavidad; pronto son muy numerosas, y uniéndose y entremezclándose las que salen de distintos puntos, acaban por invadir, por completo, el lugar ocupado por las células foliculares.

Es la primera ocasión en que se ven fibras conjuntivas en la cavidad de la vesícula, interiormente a la lámina conjuntiva que formaba la pared propia; pero, en este caso, proceden evidentemente de esta última, y responden al hecho conocido y general, sobre todo en patología, que cuando un grupo de células degenera, es prontamente absorbido por una invasión del tejido conjuntivo vecino.

Siguiendo las células su crecimiento, acaba por cerrarse la cavidad de la vesícula, y entonces queda en su lugar un pelotón conjuntivo (fig. 31), formado por las fibras que constituían la lámina interna, la cual ha desaparecido como tal, más aquéllas que se han producido durante la invasión. Este pelotón tiene una figura irregular, con numerosas puntas, de las que arrancan las fibrillas intercelulares.

En el caso, muy frecuente según veremos, en que exista un grupo de espermatogonias de regeneración en el interior de la vesícula, no puede llegar a formarse el pelotón conjuntivo, y las fibras de la lámina interna se limitan a formar una cubierta resistente alrededor del grupo.

Como hemos visto, la disposición radiada de las células des-

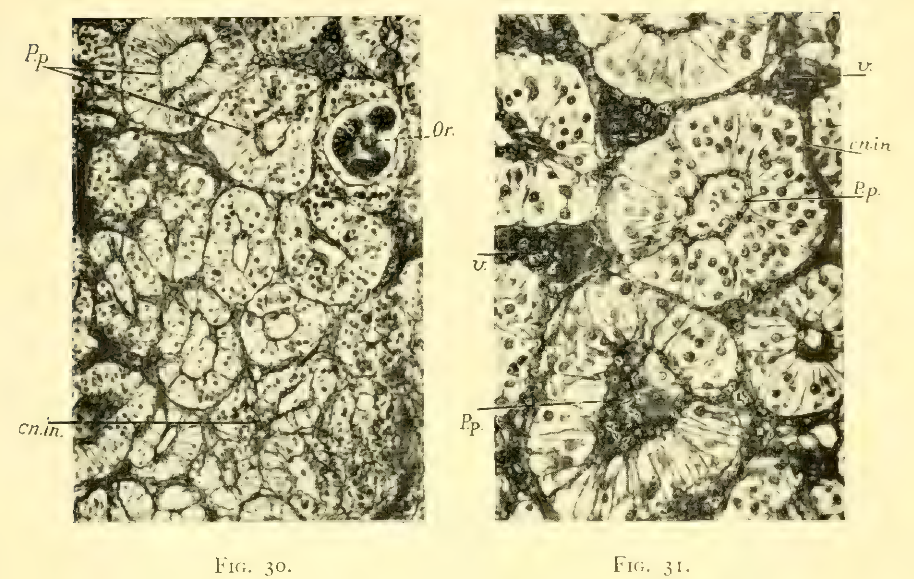


FIG. 30.

FIG. 31.

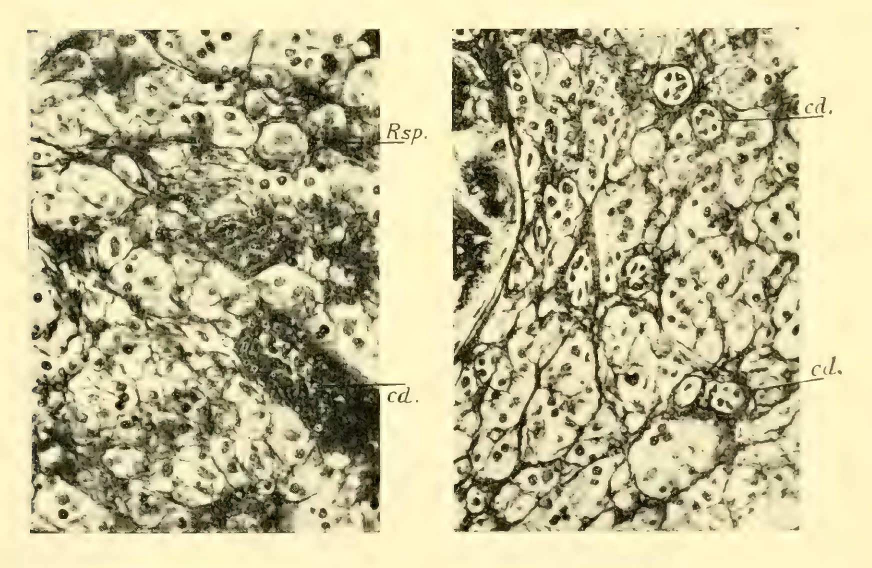


FIG. 32.

FIG. 33.

M. García Banús, fot.

aparece pronto, formándose pequeños grupos de células alrededor de los numerosos capilares; la disposición del conjuntivo varía de acorde con la de las células.

Forma gruesas cubiertas de fibras colágenas, alrededor de los canalículos deferentes (fig. 33, *cd.*) y de los grupos de espermatogonias de regeneración (fig. 32, *Rsp.*); han desaparecido por completo el pelotón conjuntivo central de las vesículas y el sistema de fibras situado entre ellas; las fibras que los constituían forman ahora haces curvos (fig. 33), que ponen en relación los sistemas que envuelven los canalículos deferentes, unos con otros, y, al mismo tiempo, envuelven a los grupos redondeados de células, que se forman alrededor de los capilares.

El conectivo fibrilar ya no está formado por fibrillas rectas, siendo en este momento curvas y muy ramificadas, respondiendo esto al cambio de forma de las células glandulares, a las que envuelven, formándoles como una cesta de fibrillas; también rodean a los capilares sanguíneos. De la abundancia y disposición del conjuntivo, puede darnos idea la fotografía (fig. 32), donde todavía se observan restos de los pelotones centrales, deshaciéndose en fibrillas.

A partir de este momento, el conjuntivo se hace cada vez más abundante, sobre todo durante la regresión de la glándula, para dar lugar a la estructura característica de la lacinia caudal, que estudiaremos más adelante.

Espermatogonias residuales o de regeneración.—Entre las células de la glándula se encuentran numerosas células grandes, con núcleo polimorfo, multilobado o en anillo, análogas a las espermatogonias primitivas de la lacinia pulmonar.

Al estudiar la formación de la glándula, hemos visto que procedían de las espermatogonias que quedan sin evolucionar en el interior de las vesículas de la región primera, en el punto en que comunican con el canalículo deferente (figs. 19 y 20); es decir, de las células llamadas por NUSSBAUM (1906), *Restsperma-*

togonien, que al ser expulsados los espermatozoides, permanecen en el interior de la vesícula (figs. 22 y 23), quedando aprisionadas por las células glandulares, cuando éstas se desarrollan, permaneciendo sin embargo, en relación con el canalículo deferente primitivo de la vesícula.

En las vesículas con espermatozoides son muy pequeñas, quedan aplastadas contra la pared; tienen un diámetro máximo de 20 µ próximamente; se encuentran en grupos de dos o tres, envuelta cada una en una cubierta propia de células foliculares (fig. 28); está situado el grupo *siempre* dentro de la vesícula, interiormente a la pared propia de la misma, y en el punto de entrada del canalículo deferente, en contacto muchas veces, con las células epiteliales que revisten a éste.

Al formarse la glándula, queda encerrado el grupo de espermatogonias de regeneración en el interior de una cubierta conjuntiva, resto de la antigua pared propia de la vesícula, formando como un pequeño nido (fig. 32, *Rsp.*); su tamaño ha aumentado y se encuentran frecuentes casos de división por carioquinesis, de modo que pueden formar grupos de 4, 5, y aun más, espermatogonias.

Sigue cada una envuelta en su folículo propio, y el pequeño nido que constituye el grupo, con su cubierta conjuntiva, está en comunicación siempre con un canalículo deferente; en la figura Z tenemos uno de estos nidos en una preparación impregnada por el método de Achúcarro; comu-

Fig. Z.

Nido de espermatogonias de regeneración, en la región glandular. *cd.*, canalículo deferente unido al nido. *Fol.*, células foliculares; *Sp.*, espermatogonias; *Mit.*, mitocondrias; *cn.*, conjuntivo. Método de Achúcarro. Obj. 3 mm.; oc. 18. : × 1150.

nica por la parte inferior con el canalículo deferente *(cd.)*; pueden verse en las espermatogonias *(Sp.)*, el núcleo polimorfo (en la de arriba aparece segmentado por verse en corte óptico) con numerosos nucleolos—la cromatina no es visible por el método empleado—, y en el protoplasma, numerosas mitocondrias *(Mit.)*, que forman lo que NUSSBAUM llama un *Nebenkern* diseminado. Alcanzan dichas espermatogonias, en la parte de la glándula ya formada, 35-40 μ de diámetro, y al final de la evolución, más de 40 μ.

Poseen siempre un núcleo polimorfo con escasa cromatina, dispuesta en gránulos pequeños y numerosos nucleolos, y protoplasma abundante, en el que es fácil observar una esfera atractiva grande, con uno, dos, y alguna vez tres centriolos, y numerosas mitocondrias diseminadas.

En todos los testículos he encontrado espermatogonias de esta clase; en algunos son más escasas las vesículas que las contienen; pero, en general, la mayoría de las vesículas encierra un grupo de ella.

En muchos casos, alguna o algunas de estas espermatogonias han sufrido la degeneración oviforme (fig. 30, *Ov.*), teniendo entonces tamaño mucho mayor, hasta 150-170 μ; un núcleo grande con la cromatina dispuesta, según las distintas fases de la formación de la vesícula germinativa de los anfibios, descritas por CARNOY y LEBRUN (1897), y el protoplasma cargado con numerosas granulaciones.

A veces es una sola entre las espermatogonias de un grupo, la que sufre la transformación citada, quedando las restantes aplastadas por el extraordinario volumen del óvulo, contra la pared del nido; pero otras veces son todas las espermatogonias de un nido las que sufren dicha degeneración, encontrándose grupos de tres o cuatro óvulos, oprimidos unos contra otros.

No he encontrado otras clases de degeneración entre las espermatogonias de este tipo.

c.—Regresión de la glándula.

La parte más posterior de la región glandular experimenta una regresión, transformándose en lacinia caudal, o si hay un lóbulo más posterior, en cordón de unión. Esta regresión tiene lugar en casi todas las épocas; pero especialmente, con mayor intensidad, a principios de verano; se nota exteriormente por una disminución brusca del diámetro del testículo, con pérdida al mismo tiempo, del color amarillo y de la opacidad, haciéndose incoloro y casi transparente; interiormente se nota la desaparición de las células glandulares, que son substituídas por tejido conjuntivo, y un aumento del número de espermatogonias de regeneración.

La desaparición de las células glandulares se verifica, en parte, por una degeneración y reabsorción consiguiente, encontrándose en esta parte numerosas células con el núcleo degenerado y sin estructura, conteniendo tan sólo la cromatina, en forma de gruesas gotas refringentes.

En general, las células glandulares no desaparecen, sino que sufren una evolución contraria a la que experimentaron durante la formación de la glándula, y vuelven a transformarse en células conjuntivas; para esto disminuyen de tamaño, quedando de nuevo aprisionadas entre las fibras conjuntivas, cada vez más numerosas; pierden la grasa poco a poco, haciéndose el protoplasma más homogéneo; el núcleo vuelve a adoptar formas aplastadas o alargadas, y una disposición en la cromatina, análoga a la ya descrita al principio de la evolución.

Queda esta parte formada por abundantísimo conjuntivo, en el que se encuentran algunas células, todavía con gotas de grasa, y sumergidas en él los pequeños nidos de espermatogonias de regeneración (fig. 29), cada vez mayores y más numerosos, y los canalículos deferentes, a ellos unidos. Se ve en la figura

cómo aumenta el conjuntivo, a partir de la parte más anterior donde todavía hay numerosas células glandulares, hasta la lacinia caudal donde sólo quedan los nidos de espermatogonias sumergidos en el conjuntivo.

Coincidiendo con la desaparición de la grasa de las células glandulares, se nota la existencia de ella en elementos que hasta ahora no la poseían, como son las células que forman los canalículos deferentes, donde puede ser muy abundante, y aun en algunas espermatogonias; toda esta grasa desaparece por completo, más tarde, al acabar de formarse la lacinia caudal.

5—La lacinia caudal y cordones de unión

Análogamente a la lacinia pulmonar están constituídos por nidos de espermatogonias grandes con núcleo polimorfo, encerrada cada una en un folículo particular y reunidos todos por una cubierta conjuntiva; los nidos comunican con una ramificación de un canalículo deferente.

Entre los nidos de la lacinia caudal, el conjuntivo, como ya lo hizo notar Meves (1897) en la salamandra, es muy abundante; pero, al crecer los nidos, se hace más escaso, quedando en la misma disposición ya descrita para la lacinia pulmonar.

Se origina la lacinia caudal a expensas de la última porción de la región glandular, cuando ésta degenera, desapareciendo las células glandulares y quedando sólo el tejido conjuntivo y las espermatogonias de regeneración.

Estas, que son enteramente iguales a las que se encontraban en la lacinia pulmonar, pueden originar, por una evolución análoga a la ya conocida para ésta, un segundo lóbulo, compuesto de las mismas partes, e igualmente dispuestas.

Entonces la lacinia caudal es más bien un cordón de unión, que se origina por la parte más anterior, a expensas de la región

glandular del lóbulo primero, y da lugar, por su extremo posterior, al lóbulo segundo.

Cuando la lacinia caudal procede de un segundo lóbulo, puede dar origen, aunque esto es muy raro a un tercer lóbulo, por el mismo proceso.

6.—Resumen y discusión

La disposición del testículo del gallipato, en la parte que contiene células sexuales, responde a un plan único, durante toda la evolución de éstas, tanto en la lacinia pulmonar como en las regiones primera y segunda.

Está constituído por vesículas de paredes formadas por tejido conjuntivo (células y fibras), unidas cada una a un canalículo deferente, formado por células epiteliales, y una cubierta de tejido conjuntivo, la cual se continúa con la que forma la vesícula; son pues, realmente, como ampollas formadas en la extremidad de un canalículo deferente. Estas vesículas contienen un cierto número de folículos, que envuelven a las células sexuales.

Al principio de la evolución, las ampollas son muy pequeñas, pues contienen solamente dos o tres células sexuales, envueltas cada una completamente por una cubierta propia de células foliculares, en un folículo particular; el conjunto de los dos o tres folículos forma un grupo macizo, sumergido en el conjuntivo, muy abundante, lo que le ha merecido el nombre de *nidos*, dado por Meves.

Cuando se dividen las células, las dos células hijas que resultan quedan envueltas en un folículo particular, y así aumenta el número de éstos dentro del nido, conteniendo cada uno de ellos una sola célula sexual, y el nido aumenta de volumen; cuando el número de folículos es ya muy grande, se disponen sobre las

paredes de la ampolla, dejando una cavidad en el centro, y entonces la ampolla es ya una verdadera vesícula en comunicación con su canalículo deferente.

A partir de este momento, las células sexuales que resultan de la división de una de ellas ya no se rodean de un folículo particular, sino que quedan encerradas en el de la célula madre, conteniendo las vesículas, que han aumentado de volumen, unos cuantos folículos, que encierran cada uno un gran número de células sexuales, las espermatogonias de segundo orden; es decir, que las vesículas contienen cada una un cierto número de *espermogennes* de v. La Valette Saint-George, o de *espermatocistos* de Flemming.

Dentro de los folículos sufren las espermatogonias el período de crecimiento que las transforma en espermatocitos, aumentando el volumen de los folículos, que llenan por completo la vesícula; tienen lugar las divisiones madurativas y la transformación de espermátidas en espermatozoides, sin que se destruyan los folículos; los espermatozoides, durante su formación, adquieren relación con las células foliculares centrales, que toman el papel de células nutridoras, análogo al papel de las células de Sertoli en el testículo de los mamíferos, aves, etc.

Una vez formados los espermatozoides, quedan encerrados dentro de los folículos, que no se destruyen hasta el momento de ser expulsados aquéllos.

Durante toda la evolución de las células sexuales, hay en el testículo del gallipato dos clases de células, además de aquellas: las células foliculares, y las células de tejido conjuntivo, que se diferencian perfectamente unas de otras por los siguientes caracteres:

1.° Por la disposición anatómica.

Las células foliculares forman una cubierta completamente cerrada, el *folículo,* que contiene una sola espermatogonia de primer orden, varias de segundo orden, o un número grande de espermatocitos, espermátidas o espermatozoides.

Las células conjuntivas no rodean directamente a las sexuales; forman vesículas, ampollas, en comunicación con un canalículo deferente, las cuales contienen un cierto número de folículos; también se encuentran entre las vesículas, rellenando los espacios que dejan, y rodeando a los capilares sanguíneos y canalículos deferentes.

2.° Por la estructura histológica.

Hemos visto que, durante toda la evolución, se distinguen ambas clases de células por el tamaño, forma y por disposición de la cromatina del núcleo; por la estructura y contenido del protoplasma, y sobre todo, porque las células conjuntivas van constantemente acompañadas de fibras que faltan siempre entre las células foliculares.

3.° Por su evolución y relaciones con las células sexuales.

Las células foliculares experimentan un ciclo funcional paralelo a la evolución de las células sexuales; cuando rodean a espermatogonias, se limitan a recubrirlas, conteniendo su protoplasma tan sólo granulaciones análogas a mitocondrias; durante la profase de los espermatocitos, aumenta considerablemente el protoplasma, cargándose de gotas de grasa, y siendo en él más visibles las mitocondrias, especialmente alrededor de las gotas de grasa; cuando los espermatozoides empiezan a formarse, queda su extremidad anterior sumergida en el protoplasma de las células foliculares centrales, que parece obran entonces como nutridoras de aquéllos; en efecto, hay en las células foliculares, durante este período, una gran actividad, que se manifiesta por la existencia de gran cantidad de granulaciones, mitocondrias y otras, que se reúnen al lado del núcleo, formando a modo de un *Nebenkern;* indudablemente, hay un paso de substancias nutritivas desde las células foliculares a los espermatozoides, pues disminuye la grasa en aquéllas, mientras que aparecen entre éstos gran cantidad de gotas de la substancia cromatófila de Flemming (1888) *(protagón)?.* Esta substancia se emplea durante la evolución de los espermatozoides, desapareciendo al final de

ésta; una vez terminada la evolución de los espermatozoides, empieza una regresión, o degeneración, que termina con la destrucción de las células foliculares cuando se disocian los folículos y son expulsados los espermatozoides; entonces, como función final, parecen tener la de fagocitar los espermatozoides que quedan rezagados, o que han degenerado.

De modo que el ciclo evolutivo de las células foliculares consta de tres períodos muy marcados: uno de acumulación de fuerzas, que dura hasta las divisiones madurativas, caracterizado por aumento en la cantidad de cromatina del núcleo, aumento de las mitocondrias y almacenamiento de grasa; un segundo período de gran actividad funcional, durante la formación de los espermatozoides, caracterizado por la relación que con éstos adquiere su protoplasma, por la formación del *Nebenkern* y el empleo de la grasa, y un tercer período degenerativo hasta la destrucción total, después de la expulsión de los espermatozoides, caracterizado por arrugarse el núcleo, pérdida de la cromatina, formación en el protoplasma de grandes vacuolas y bolas degenerativas, y, por último, la degeneración cromatolítica y grasosa del núcleo.

Durante toda esta evolución, las células conjuntivas no varían apenas, limitándose a quedar más aplastadas al aumentar considerablemente el volumen de las vesículas.

La diferencia entre ambas clases de células es aún más marcada una vez expulsados los espermatozoides, cuando las células foliculares degeneran y desaparecen, mientras que las células conjuntivas empiezan una evolución que las conduce a formar el tejido glandular, o tercera región del testículo.

De modo que, contrariamente a lo indicado por Champy para los testículos de *Salamandra* y *Triton*, hay en el testículo de gallipato dos clases de elementos accesorios, las células foliculares y las células conjuntivas; aunque su origen fuera el mismo, como quiere demostrar Champy para los otros anfibios, lo cual no puedo confirmar ni rebatir, pues no lo he estudiado, en el testículo adulto son perfectamente distintos, y con una diferencia de ca-

rácter tan marcada, que parece más conforme con la manera de pensar de Bouin (1900) y Dustin (1907), suponiendo que sean de origen distinto.

Las vesículas de conjuntivo que constituyen el testículo, no son en el gallipato cistos cerrados, como describe Champy en *Salamandra* y *Triton*, sino que están desde el primer momento en comunicación con un canalículo deferente, estando esto más conforme con la descripción que Nussbaum (1906) da para aquellas especies.

Los folículos no se destruyen, como dice Champy que ocurre en *Salamandra* y *Triton*, con lo que él llama cistos secundarios, formando las células de los primarios, a modo de un *epitelio sertoliano*, que está en contacto con la pared del cisto, y en el que se forman algunos salientes, donde se implantan los espermatozoides. En el gallipato las células que toman la función de células de Sertoli son las células foliculares centrales, las más alejadas de la pared de la vesícula, y cuando los folículos están todavía perfectamente formados, envolviendo el grupo de espermatozoïdes en formación.

Concuerda esto con la descripción que da Flemming de este estado de la formación de los espermatozoides de *Salamandra*, según la cual las células foliculares toman el papel de espermatoblastos, estando situadas hacia la luz del *tubo seminífero*, de modo que quedan los espermatozoides con la cabeza hacia el interior, y las colas hacia las paredes de los supuestos tubos.

No se disocian los folículos sino poco antes de la expulsión de los espermatozoides, y, por tanto, en general, algunos meses después de su formación; las células foliculares que quedan en el interior de la vesícula, cuando han sido expulsados los espermatozoides, pueden disponerse, a veces, en una especie de epitelio sobre las paredes de la vesícula; pero esta formación desaparece pronto por destrucción de las células.

Existen en todos los testículos espermatogonias residuales análogas a las descritas por Nussbaum en *Salamandra* y *Triton*, y

proceden, como en éstas, de espermatogonias de primer orden, que no evolucionan, quedando dentro de la vesícula, al lado de la entrada del canalículo deferente; producen nuevos lóbulos del testículo, como vimos en la primera parte.

Al ser expulsados los espermatozoides, mientras las células foliculares terminan la evolución regresiva, las células conjuntivas de la pared de las vesículas sufren un cambio muy importante, dando origen al tejido glandular.

Este tejido no se forma en el gallipato a expensas de las células foliculares, como supone Nussbaum (1905 y 1906), ni a expensas de las células de los cistos, las de sus paredes y las que entre ellos se encuentran, según describe Champy, ambos en *Salamandra* y *Triton;* aquí se forma *exclusivamente* a expensas de las células conjuntivas que forman las paredes de las vesículas y que se encuentran entre ellas; ya hemos visto que mientras éstas forman el tejido glandular, las células foliculares desaparecen por degeneración.

Se forma este tejido por aumento de tamaño de las células conjuntivas, que se cargan de gotas de grasa o de otro lipoide, van invadiendo la antigua cavidad de la vesícula, alrededor de la cual o de un pelotón de tejido conjuntivo, cuando aquélla desaparece por completo, quedan dispuestas de una manera radiada; finalmente se aislan pequeños grupos de células o lobulillos, separados por tejido conjuntivo, no modificado, y que rodean a un capilar que pasa por el centro del lobulillo.

Los capilares en esta parte son muy abundantes; se ramifican formando una red muy complicada, en cuyos huecos están situadas las células glandulares; de modo que no hay célula que no tenga una porción de su superficie en contacto con un capilar.

Por la parte posterior sufre una regresión este tejido, volviendo sus células a tomar el carácter de células conjuntivas o degenerando muchas, desapareciendo la grasa que contienen y formándose la lacinia caudal con las espermatogonias residuales que pueden regenerar un nuevo lóbulo del testículo. A pesar de esta

regresión, que tiene lugar en grandes proporciones en la época de máxima actividad de espermatogénesis, no por eso llega a desaparecer el tejido glandular, encontrándose en todas las épocas formando una parte del testículo.

No parece ser este tejido una formación de carácter degenerativo, como supone NUSSBAUM, sino que aparece más bien con el carácter glandular que le atribuye CHAMPY; de no ser así, no sería fácil explicar el porqué de la distribución de las células en forma de pequeños grupos alrededor de los capilares, poseyendo en todos casos, esta disposición, la mayor parte de la glándula; la gran abundancia de capilares hace pensar en un gran acceso de sangre necesario, para una mayor actividad en las células, actividad que parece confirmada por el cambio de estructura en el núcleo, por la existencia de la esfera y centrosomas siempre muy visibles, por la abundancia de granulaciones, mitocondrias, etc., y sobre todo, por la propiedad que tienen ciertas partes del protoplasma de estas células, de colorearse intensamente por la hematoxilina de hierro de HEIDENHAIN; esta estructura, que sufre un ciclo evolutivo apareciendo en gránulos sueltos, extendiéndose después a casi todo el protoplasma y terminando en forma de masas aisladas, desapareciendo por último, antes de la regresión de la célula, se encuentra siempre en el retículo protoplásmico, y podría compararse tal vez con el *ergastoplasma* o *protoplasma* superior de PRENANT o con los gránulos de secreción característicos de las glándulas, y que en muchos casos se colorean también con la hematoxilina de hierro.

Una de las formas de esta actividad parece ser la formación de grasa que se acumula en grandes cantidades; pero indudablemente, no es esta la única forma de actividad de estas células; pues cuando se disponen alrededor de los vasos capilares, que es cuando la actividad parece debe ser mayor, la grasa está ya completamente formada en las células, encontrándose éstas cargadas de ella.

CHAMPY supone (1913) que este tejido produce, además de la

grasa, una secreción interna, que tendría influencia sobre los caracteres sexuales externos y para activar la espermatogénesis.

Esta opinión de la secreción interna parece apoyada por la disposición de las células alrededor de los capilares sanguíneos y de la abundancia de éstos.

Pero esta disposición sólo tiene lugar en la parte de la glándula ya formada; cuando todavía persisten las vesículas, los capilares se disponen entre ellas, rodeándolas (figs. 24 y 25), y las células, ya con caracteres glandulares, se encuentran entre dichos capilares y la cavidad de la vesícula que todavía existe y continúa en comunicación con el exterior por el canalículo deferente; de modo, que si en este período hay alguna secreción, ésta podría muy bien ser expulsada; pero posteriormente, las células pierden toda relación con los canalículos deferentes, que circulan por entre ellas envueltos en fuertes cubiertas conjuntivas formadas por células y fibras, y que sólo se relacionan con los grupos de espermatogonias residuales, protegidos a su vez, por cápsulas resistentes de conjuntivo; esta es, sin embargo, la parte más importante y más extensa de la glándula, siendo la otra tan sólo una parte de tránsito, que sólo ofrece grandes dificultades en las épocas de formación activa de tejido glandular.

Es comparable este tejido con la glándula intersticial descrita por numerosos autores en el testículo de aquellos vertebrados, en los que está formado por tubos seminíferos.

En efecto, según los autores más modernos que se han ocupado de dicha glándula intersticial, ésta se produce a expensas de las células conjuntivas que se encuentran entre dichos tubos (Bohl, 1869; Hansemann, 1895 y 1896; Plato, 1896 y 97; Friedmann, 1898; Regaud, Senat, 1900; Bouin et Ancel, 1903-1905).

Estas células se encuentran también en relación íntima con los capilares, no formando tubos glandulares cuya luz sería el capilar, como describía Bohl, sino formando grupos alrededor de ellos.

Se atribuye a dicha glándula intersticial dos funciones: una de ellas la de produción de alimentos grasos que pasarían al in-

terior de los tubos seminíferos, a través de la membrana, bien en estado libre por conductos preformados en ella, como describía Plato (1896-97) o disuelta, como han demostrado posteriormente Beissner (1898), Friedmann (1898), Regaud, Senat y Bouin et Ancel.

La otra función que le dan los autores modernos, a partir de Bouin, es la de producir una secreción interna que, vertiéndose en la sangre, influiría sobre los caracteres sexuales secundarios y sobre el celo; Bouin (1904 *b*) demuestra que es la única parte del testículo que pueda producir una secreción de esta clase.

La primera función, de las atribuídas a las glándulas intersticiales, parece indudable que la posee el tejido glandular de que nos ocupamos. En efecto, almacena una gran cantidad de materias lipoides o grasas; ya hemos hecho notar la coincidencia de la época de mayor regresión del tejido glandular, durante la cual, un gran número de células pierden su grasa, volviendo a tomar el carácter de células conjuntivas ordinarias, con el período de espermiogénesis, durante el cual aparece gran cantidad de grasa en las células foliculares que sirven de alimentadoras de los espermatozoides en formación. Esto parece indicar un tránsito de la grasa del tejido glandular a las células foliculares, análogo al descrito por los autores para las glándulas intersticiales; pero en este testículo no puede hacerse directamente a través de las paredes de los tubos, como en aquellos en los que el tejido glandular es intertubular; aquí el tejido glandular está separado del punto donde se verifica la espermiogénesis, en otra parte del testículo, y el paso de la grasa sólo podría hacerse vertiéndose primeramente en la sangre por los numerosos capilares y de allí a las células foliculares. Esto no puede asegurarse sin demostrarlo; sólo es posible suponerlo, en vista de la coincidencia de la desaparición de la grasa del tejido glandular y aparición de la misma poco después, en las células foliculares.

De ser esto verdad, entraría el testículo del gallipato dentro del segundo grupo de la clasificación de las glándulas genitales

hecha por Plato (1897), siendo un testículo de alimentación conjuntiva en el que el alimento, substancia lipoide, se produce en un tejido glandular conjuntivo, siendo después cedido a las células foliculares.

Difiere de lo indicado por Friedmann (1898), en *Rana* y *Bufo* según lo cual, la primera grasa se produciría en las células foliculares antes de que existiera en las intersticiales, y que una vez agotada la provisión de aquéllas, es cuando empieza a ser utilizada la que posteriormente se ha producido en la glándula intersticial. En el gallipato, mucho antes de que aparezca grasa en las células foliculares, se encuentran las células glandulares completamente cargadas de ella.

Respecto a la segunda función, atribuída a las glándulas intersticiales, la de producción de una secreción interna es más difícil probar su existencia en este tejido glandular del gallipato; sólo puede fundarse tal suposición, por ahora, en consideraciones de carácter anatómico e histológico; en la existencia de protoplasma diferenciado que hace suponer una secreción en las células y en la abundancia extraordinaria de capilares sanguíneos y disposición de las células alrededor de ellos, lo que indicaría que dicha secreción sería vertida a la sangre; pero no es posible asegurar su existencia, ni sus efectos posibles en el organismo sin una demostración experimental.

Champy supone la existencia de una secreción interna en el tejido glandular de los urodelos por él descritos, pues no pudiendo servir para producir alimento para las células sexuales por estar separadas, no podría servir dicho tejido para otra cosa. Pero ya hemos dicho que, en el gallipato por lo menos, parece indudable que la grasa producida en las células glandulares pasa a las células foliculares.

Indica Champy como muy probable la producción de una secreción que sirviera como excitante para que se realice la espermatogénesis. En efecto, en el testículo de los urodelos por él estudiados, no existen sino espermatogonias, hasta un cierto

momento en el cual estas células sufren el período de crecimiento, transformándose en espermatocitos; este es el momento inicial del proceso espermatogenésico anual, que coincide con la única época en que, en dichos urodelos, existe el tejido glandular. Pero en el testículo del gallipato, dicho tejido existe siempre, si bien es verdad que es más abundante en la primavera, que es cuando se inicia el proceso espermatogenésico anual; pero esa mayor abundancia es debida a haberse vaciado poco antes las vesículas de espermatozoides de la segunda región del testículo y haberse producido una nueva formación de dicho tejido.

El excitante que determina el principio de actividad espermatogenésica, parece más bien de causa externa, probablemente la temperatura, como indican los ensayos que muchas espermatogonias hacen para proseguir su evolución, la cual fracasa por degeneración de dichas células cuando las condiciones no son favorables (vesículas con céludas degeneradas, muy abundantes en los testículos de últimos de invierno y principio de otoño).

Nussbaum (1905 y 06) y Champy (1913) comparan esta formación con los cuerpos amarillos del ovario de los mamíferos; el primero suponiéndolo un tejido de degeneración, y el segundo dando a los cuerpos amarillos la significación de glándula intersticial del ovario. Esta comparación no es sostenible en el gallipato, pues los cuerpos amarillos están formados, según la opinión general, por las células foliculares, mientras que el tejido glandular del gallipato lo está exclusivamente por las células conjuntivas.

La formación con la cual la semejanza es indudable, es el verdadero tejido intersticial del ovario, descrito por primera vez, de un modo detallado, por Limon (1902) en el ovario de varios mamíferos, y que se origina, exclusivamente, a expensas de las células conjuntivas que forman la teca interna de los folículos atréticos, produciéndose en éstos los falsos cuerpos amarillos de origen conjuntivo, cuyas células se disponen posteriormente en grupos o islotes, separados por conjuntivo, alrededor de los ca-

pilares sanguíneos. Esta formación ha sido confirmada posteriormente por Cesa-Bianchi (1907 y 08) en mamíferos invernantes, y por Kingsbury (1914) en el gato, si bien éste no cree tenga el carácter de glándula de secreción interna que le atribuyen los demás autores. Es notable la coincidencia de la disposición de las células en este tejido con la que describe Cesa-Bianchi como puede tenerse idea comparando mis figuras con las de sus trabajos.

Con relación a la existencia de un tejido glandular, ocupan los urodelos un lugar intermedio entre los vertebrados más inferiores (peces, selacios, ciclostomos) donde no se ha descrito ninguna formación de esta clase, y los vertebrados de testículo con tubos seminíferos, en los que existe un tejido glandular intersticial. El gallipato se separa por este respecto de todos los demás urodelos, cuyo testículo ha sido descrito por Champy y Nussbaum, por su tejido glandular permanente, ocupando un lugar intermedio entre dichos urodelos, de testículos con tejido glandular temporal, y los vertebrados más superiores, con tejido glandular intersticial permanente.

Resumiendo lo indicado acerca de la distribución del tejido conjuntivo fibrilar y reticulado, debo hacer constar el hecho de no haber sido observado nunca dentro de las vesículas; sólo se encuentra entre las células conjuntivas, a las que rodea cuando aumentan de volumen para formar el tejido glandular, y cuando éste está formado, constituye el conjuntivo reticulado unas formaciones alrededor de las células a modo de cestas protectoras.

Es digno de ser notado el caso de invasión por el conjuntivo fibrilar, del espacio ocupado por la células foliculares en degeneración, al formarse el tejido glandular. Parece confirmar la teoría de Cajal (1913 y 14) de individualidad de las fibrillas conjuntivas para el crecimiento.

No he observado en ningún caso el *syncitium* descrito por Ranke (1913), donde se diferenciarían las fibras conjuntivas, estando por tanto, conforme esto con lo indicado posteriormente por Achúcarro (1913) y Achúcarro y Calandre (1913).

CONCLUSIONES

1.ª El testículo del gallipato está formado de partes distintas de análoga naturaleza, lóbulos, formado cada uno de segmentos o regiones de naturaleza distinta que se repiten de un modo semejante de uno a otro lóbulo. El número de estos es en muchos casos uno, en el testículo de cada lado, frecuentemente dos y rara vez tres. El número de regiones de cada lóbulo y la naturaleza de dichas regiones, varía con la época del año en que se estudie el testículo. El lóbulo más anterior se prolonga hacia la cabeza por la llamada lacinia pulmonar. Cuando hay más de un lóbulo, están éstos reunidos a modo de rosario por cordones delgados transparentes, cordones de unión o intermediarios. El último lóbulo puede o no llevar una lacinia caudal o cloacal.

2.ª En los testículos de invierno constan los lóbulos de tres regiones distintas, además de la lacinia pulmonar que contiene siempre espermatogonias primitivas con núcleo polimorfo; una región de color gris, translúcida, conteniendo espermatogonias; otra blanca opaca, conteniendo espermatozoides maduros, y una tercera región amarilla, formada por células con carácter glandular y cargadas de gran cantidad de grasa. Cuando hay más de un lóbulo, en cada uno se repiten las mismas partes con el mismo

orden; en el último de ellos puede faltar alguna de estas regiones, existiendo solamente la primera, o la primera y la segunda; no existe nunca lacinia caudal si no poseen el último lóbulo las tres regiones enunciadas. En los cordones de unión, cuando hay más de un lóbulo, y en la lacinia caudal si existe, vuelve a haber espermatogonias con núcleo polimorfo.

3.ª No existen en el testículo de gallipato tubos seminíferos; está formado por vesículas o ampollas de tejido conjuntivo en comunicación constantemente con canalículos deferentes, y conteniendo las células sexuales envueltas en cubiertas cerradas, los folículos, formadas por células foliculares. En cada vesícula hay contenidos varios folículos con células sexuales.

4.ª Al llegar la primavera, época de celo, se vacían de espermatozoides las vesículas que contiene la región segunda del testículo; a expensas de dichas vesículas vacías se aumenta la región tercera amarilla, quedando durante el verano el testículo, formado de dos regiones, además de la lacinia pulmonar: la anterior muy aumentada, que contiene vesículas con células sexuales en distintos estados de la formación de espermatozoides y la región amarilla, formada por células glandulares; esta última sufre una disminución de extensión al empezar el verano, originándose a sus expensas la lacinia caudal, si se trata de un lóbulo terminal, o prolongándose el cordón de unión si hay un lóbulo más posterior. Durante el verano y otoño se forma en la primera región un gran número de espermatozoides, algunos de los cuales son empleados inmediatamente, aumentando la región tercera a expensas de las vesículas que los contenían; pero la mayoría de los espermatozoides formados durante el verano, permanecen encerrados en los folículos durante el otoño e invierno, para ser empleados a la primavera siguiente, formando las vesículas que los contienen, la segunda región del lóbulo que vuelve a constar de tres, la primera formada por unas cuantas vesículas con espermatogonias que no han llegado a evolucionar unidas a la lacinia pulmonar.

5.ª Existen en el testículo del gallipato dos clases de células claramente distintas, además de las células sexuales; 1.º las células foliculares que forman folículos cerrados, envolviendo directamente a las células sexuales, adquiriendo con los espermatozoides en formación, una relación íntima de cambio de substancias alimenticias, haciendo el papel de las células de Sertoli, de los mamíferos, envolviendo a los espermatozoides formados hasta el momento de su expulsión, y degenerando, una vez expulsados éstos, y 2.º: las células de tejido conjuntivo, que forman vesículas en comunicación con un canalículo deferente cada una, y que contienen varios folículos; esta segunda clase de células se distingue claramente de las primeras, no adquiere relación con las células sexuales, y cuando los espermatozoides son expulsados, quedando vacías las vesículas y degenerando las células foliculares, sufren una transformación: toman el carácter de células glandulares, se carga su protoplasma de gotas de grasa y dan origen al tejido glandular que constituye la región amarilla del testículo.

6.ª Se separa el testículo del gallipato de las descripciones dadas para el de los otros urodelos, por la existencia constante en todas las épocas del año, del tejido glandular. Este se origina exclusivamente a expensas de las células conjuntivas que forman las paredes de las vesículas cuando éstas quedan vacías.

Tiene dos épocas de máxima formación subsiguientes a las épocas de celo, una de ellas en primavera y otra a principios de otoño, y una época de intensa reducción, aunque sin llegar a desaparecer, a principios de verano, cuando tiene lugar en la primera región del testículo el máximo de actividad espermatogenésica.

7.ª Consta la región glandular, en general, de una parte de formación en la que conservan las células la disposición en vesículas, quedando las cavidades de éstas en comunicación todavía con los canalículos deferentes, y circulando los capilares entre las vesículas; otra parte, la más extensa, en la cual las células están

dispuestas en grupos rodeados de tejido conjuntivo, alrededor de numerosos capilares, que forman una red tan complicada que no hay célula que no tenga una gran superficie en contacto con un capilar; hay también una parte muy extensa en los testículos de principios de verano, en la cual las células pierden su carácter glandular, volviendo a tomar el de simples células conjuntivas, o degenerando.

8.ª Es comparable este tejido glandular con la glándula intersticial del testículo de los vertebrados más superiores que poseen tubos seminíferos; siendo análoga a esta última por ser sus células glandulares procedentes de células conjuntivas, y poseer la función de producir alimentos grasos que pasan a las células foliculares que alimentan a los espermatozoides. No se puede asegurar que produzca una secreción interna, como la glándula intersticial, pero es muy probable por el carácter glandular de las células, por la disposición de éstas alrededor de numerosos capilares, en las mejores condiciones para recoger dicha secreción si existiese, en cuyo caso no se puede asegurar los efectos que produzca sobre el organismo, sin una demostración fisiológica análoga a las llevadas a cabo con las glándulas intersticiales de otros testículos.

9.ª Es también comparable al tejido intersticial del ovario de los mamíferos, no a los cuerpos amarillos, formados por células epiteliales, sino al producido a expensas de los falsos cuerpos amarillos, originados en los folículos atréticos por las células conjuntivas de la teca interna; a este tejido que existe en el ovario de todos los mamíferos, le atribuyen muchos autores la producción de una secreción interna.

10.ª Hay en el testículo el gallipato dos modos de regeneración; uno de ellos, primitivo, a expensas de las espermatogonias existentes en la lacinia pulmonar, y otro, a expensas de las espermatogonias residuales que, por un mecanismo análogo al descrito por Nussbaum, dan origen a nuevos lobulos del testículo. El primer medio puede faltar por agotamiento de las espermato-

gonias contenidas en la lacinia pulmonar en testículos de individuos viejos, desapareciendo aquella y aun todo el lóbulo anterior.

11.ª El tejido conjuntivo fibrilar y reticulado, acompaña constantemente a las células conjuntivas, formando con ellas las paredes de las vesículas y constituyendo alrededor de las células glandulares unas cestas de tejido reticular. Este, parece tener la individualidad en el crecimiento y formación que le atribuye Cajal, no formándose a expensas de un *syncitium*, como supone Ranke.

Laboratorios del Museo Nacional de Ciencias Naturales.

Madrid, noviembre de 1915.

TRABAJOS CITADOS

ACHÚCARRO (N.)

1911.—Darstellung von neugebildeten Fasern des Geiässbindegewebes in der Hirnrinde eines Falles von pro. gressiver Paralyse, durch eine neue Tannin-Silbermethode. Zeitsch. f. die gesamt. Neurol. und Psych. Bd. VII.

1913. — Histologisches über Gefässverördung und über Erweichung in der Hirnrinde. Trab. del Lab. de Inv-Biol. T. XI.

ACHÚCARRO (N.) y CALANDRE (L.)

1913.—El método del tanino y la plata amoniacal aplicado al estudio del tejido muscular cardíaco del hombre y del carnero. Trab. del Lab. de Inv. Biol. T. XI.

BEISSNER (H.)

1898. — Die Zwischensubstanz des Hödens und ihre Bedeutung. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Gesch. Bd. LI.

BELLONCI (G.)

* 1886.—Sui nuclei polimorphi delle cellule sessuali degli amfibi. Mem. d. Acad. d. Sc. di Bologna. Ser. IV, T. 7. Citado por HERMANN (1889).

(*) Los trabajos que llevan asterisco no he podido verlos directamente conociéndolos sólo por *referata*. Para bibliografía completa sobre la materia puede verse WALDEYER (1906) y CHAMPY (1913).

Bohl.

* 1869.—Die Bindesubstanz der Drüsen. Arch. f. mikr. Anat.

Böhm (A.) und Oppel (A.)

1907.—Manuel de Technique microscopique. Trad. E. Rouville, 4ème ed. française. Paris, Vigot Fes.

Boscá (E.)

1877 *a.*—Datos para la biología del *Pleurodeles Waltli.* Act. de la Soc. Esp. de Hist. Nat. T. 6.

1877 *b.*—Catálogo de Reptiles y Anfibios de España, Portugal y Baleares. An. de la Soc. Esp. de Hist. Nat. T. 6.

1881.—Correcciones y adiciones al catálogo de reptiles y anfibios de España. An. de la Soc. Esp. de Hist. Nat. T. 10.

Bouin (M.)

* 1900.—Histogénèse de la glande génitale femelle chez la *Rana temporaria.* Arch. de Biol. T. XVII.

Bouin (P.) et Ancel (P.)

1903.—Recherches sur les cellules interstitielles du testicule des Mammifères. Arch. de Zool. exp. Ser. IV, vol. I.

1904 *a.*—Recherches sur la structure et la signification de la glande interstitielle dans le testicule normal et ectopique du cheval (Note préliminaire). Arch. de Zool. exp. Notes. pp. 141-154.

1904 *b.*—La glande interstitielle a seule dans le testicule une action générale sur l'organisme. Démonstration expérimentelle. C. R. Ac. Sc. T. XXXVIII.

1905.—La glande interstitielle du testicule chez le cheval. Arch. de Zool. exp. T. XXXIII.

Cajal (S. R.)

1913.—Discurso inaugural del Congreso de la Asociación Española para el progreso de las ciencias. Congreso IV.

1914.—Histología Normal. 6.ª ed. Madrid, N. Moya.

Carnoy (J. B.) et Lebrun (H.)

1897-1899.—La vésicule germinative et les globules polaires

chez les Batraciens. La Cellule. T. XII, XIV, XVI y XVII.

Cesa-Bianchi (D.)

1907.—Observazioni sulla struttura e sulla funzione della cosidetta ghiandola interstiziale dell'ovaia. Arch. di Fisiol. Vol. 4.

1908.—Contributo alla conoscenza della fine distribuzione del tessuto connectivo nella ghiandola interstiziale dell'ovaia. Anat. Anz. Bd. XXXII.

Champy (Ch.)

1908.—Note sur les cellules interstitielles du testicule chez les batraciens anoures. C. R. Soc. Biol. T. 64.

1913.—Recherches sur la spermatogénèse chez les batraciens et les éléments accesoires du testicule. Arch. de Zool. exp. T. LII.

Dustin.

* 1907.—Recherches sur l'origine des gonocytes chez les amphibiens. Arch. de Biol. T. XXIII.

* 1911.—A propos de l'origine des *sex cells*. Rep. à M. B. Allen. Anat. Anz. Bd. IL.

Flemming (W.)

1888.—Weitere Beobachtungen über die Entwickelung der Spermatosomen bei *Salamandra maculosa*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXI.

Fraisse.

* 1880.—Beiträge zur Anatomie der *Pleurodeles Waltli*.

Friedmann (F.)

1898.—Beiträge zur Kenntniss der Anatomie und Physiologie der männliche Geschlechtsorgane. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Gesch. Bd. LII.

Gogorza (J.)

1909.—Estudio anatómico de la piel del gallipato. Mem. de la R. Soc. Esp. de Hist. Nat. T. VI.

1910.—Las glándulas cutáneas del gallipato. Asoc. Esp. para prog. de las Cienc. Congr. I, T. IV.

Hansemann (D. v.)

* 1895.—Ueber die sogennanten Zwischenzellen des Hodens und deren Bedeutung bei pathologische Veränderungen. Virchow's Arch. Bd. CXLII.

* 1896. — Ueber die grossen Zwischenzellen des Hodens. Arch. f. Anat. u. Physiol. Physiol. Abt.

Hermann (F.)

1889.—Beiträge zur Histologie des Hodens. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXIV.

Janssens (F. A.)

1901.—La spermatogénèse chez les Tritons. La Cellule. T. XIX.

Kingsbury (B. F.)

1914.—The interstitial cells of the mammalian ovary. Felis domestica. Am. Journ. of Anat. vol. 16.

La Valette Saint-George (von).

* 1875.—Die Spermatogenese bei den Amphibien. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XII.

Leydig.

* 1850.—Zur Anatomie der männlichen Geschlechtsorgane. Zeitsch. f. wiss. Zool.

Limon (L.)

1902.—Étude histologique et histogénique de la glande interstitielle de l'ovaire. Arch. d'Anat. micr. T. V.

López-Seoane.

1877.—Reptiles y anfibios de Galicia. An. de la Soc. Esp. de Hist. Nat. T. 6.

Meves (F.)

1897.—Ueber die Entwickelung der Männlichegeschlechtszellen von *Salamandra maculosa*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII.

Nicolas (M. A.)

1892.—Les spermatogonies chez la salamandre d'hiver. C. R. Soc. Biol. XLIV.

NUSSBAUM (M.)
1905.—Die Lappenbildung des Hodens einheimischer Urodelen. Zool. Anz. XXIX.
1906.—Über den Einfluss der Jahreszeit, des Alters und Ernährung auf die Form der Hoden und Hodenzellen der Batrachier. Arch. f. mikr. Anat. Bd. LXVIII.

PÉREZ.
* 1904.—Citado por CHAMPY (1913).

PLATO (J.)
1896.—Die interstitielle Zellen des Hodens und ihre physiologische Bedeutung. Arch. f. mikr. Anat. Bd. XLVIII.
1897.—Zur Kenntniss der Anatomie und Physiologie der Geschlechtsorgane. Arch. f. mikr. Anat. Bd. L.

RANKE (O.)
1913.—Neue Kenntnisse und Anschaungen von dem mesenchymalen Syncytium und seinen Differenzierungsprodukten unter normalen und pathologischen Bedingungen, gewonnen mittels der Tanninsilbermethode von N. Achúcarro. Sitz. d. Heildelberg. Akad. d. Wiss. Abt. *B*. Biologische Wiss.

RATH (O. von).
1893.—Beiträge zur Kenntniss der Spermatogenese von *Salamandra*. Zeitsch. f. wiss. Zool. Bd. 57.

REGAUD (CH.)
1900.—Note sur le tissu conjonctif interstitiel du rat. C. R. Soc. Biol.

RETZIUS.
1906.—Die Spermien der Amphibien. Biol. Unters. Bd. XIII.

SCHEFFER (W.)
1911.—Über Lichtfilter aus optischen in der Masse gefärbtem Glass für Mikrophotographie und subjektive Beobachtung. Zeitsch. f. wiss. Mikr. Bd. XXVIII.

SCHREIBER (F.)
1913.—Herpetologia Europaea. Jena. Gustav Fischer.
SENAT (L.)
1900.—Contribution à l'étude du tissu conjonctif du testicule. Thèse. Lyon.
SNOOK (H. J.) and LONG (J. A.)
1914.—Parasynaptic stages in the testis of *Aneidis lugubris*. Universit. of Calif. Public. in Zool. Vol. XI.
WALDEYER (W.)
1906.—Die Geschlechtszellen, in O. Hertwig's Handb. d. vergl. und exper. Entw.-Gesch. der Wirbelt. Bd. I. Teil I.
WIDERSHEIM.
* Das Skelett von *Pleurodeles Waltli*. Morphologische Studien. Heft I.

EXPLICACIÓN DE LAS FIGURAS NO INTERCALADAS EN EL TEXTO

Todas estas figuras, menos las 15 y 16, proceden de microfotografías obtenidas directamente de preparaciones originales; para las figuras 1-4, y 6-11, se ha empleado el objetivo Summar Leitz, de 100 mm., 1:4.5, adaptado al pie microfotográfico de Zeiss; en las demás figuras se han empleado distintas combinaciones de apocromáticos de Zeiss, que se indican en cada caso particular. Todas ellas han sido obtenidas mediante el empleo de los filtros para luz monocromática de Zeiss (SCHEFFER, 1912), variando el filtro según la coloración de la preparación. La diferencia de aumentos depende solamente, muchas veces, de la longitud de cámara empleada o de la reducción sufrida posteriormente por las fotografías para adaptarlas al tamaño de la publicación. Las figuras 15 y 16, proceden de dibujos a la cámara clara.

FIG. 1.—Testículo de 25 de noviembre; corte longitudinal. Hematoxilina-naranja G. : × 10.

Z. sp., zona de vesículas con células sexuales (espermatogonias de 1.° y 2.° orden); *z. cn.*, zonas de separación con vesículas conteniendo células degeneradas, separadas por abundante tejido conjuntivo; *z. spz.*, zona de vesículas con espermatozoides maduros; *z. spz.*$_2$, ídem en el lóbulo segundo; *gl. in.*, región glandular intermedia, con las células dispuestas todavía en vesículas; *gl.*, región de la glándula completamente desarrollada; *gl. sp.*, zona de regresión de la glándula, en la cual son muy abundantes las espermatogonias residuales; *c. un.*, cordón intermediario o de unión; *lc.*, lacinia caudal o cloacal; *v.*, vasos; *cd.*, canalículos deferentes; *gr.*, cuerpo adiposo.

FIG. 2.—Testículo de 29 de enero; corte longitudinal; hematoxilina. : × 10.

Lp., lacinia pulmonar; *hl.*, hendidura longitudinal; *ves. sp.*, vesícula de

espermatozoides aislada entre las células glandulares; *lo. 2.º*, lóbulo segundo, que consta solamente de la región de células sexuales; las demás letras como en la figura anterior.

Fig. 3.—Testículo de 8 de febrero; hematoxilina de hierro-naranja G. : × 15.

Fig. 4.—Lóbulo segundo del testículo de 23 de abril; hematoxilina-eosina. : × 15.

Las letras llevan la indicación $_2$, por referirse al lóbulo segundo; *mo., mesorchium; z. sp*$_3$, principio de la formación de un tercer lóbulo.

Fig. 5.—Terminación de la lacinia caudal del testículo anterior *(c. in*$_2$, figura 4). Safranina-azul de Lyon. Obj. 16 mm.; oc. 4. : × 85.

Sp., vesículas de espermatogonias de primer orden; *sp.*, espermatogonias de regeneración; *cn.*, tejido conjuntivo; *gl.*, células glandulares que se han conservado entre las vesículas con espermatogonias.

Fig. 6.—Testículo de 19 de abril; corte longitudinal algo oblicuo; hematoxilina de hierro-naranja G. Las letras tienen igual significación que en la fig. 1. : × 10.

Fig. 7.—Testiculo de abril (sin fecha del día). Hematoxilina de hierro-verde luz. : × 15.

La región segunda *(z. spz.)* ha desaparecido casi por completo; la región glandular *(gl.)* es muy extensa.

Fig. 8.—Testículo de 25 de mayo. Hematoxilina de hierro. : × 15.

Fig. 9.—Testículo de 26 de julio. Corte longitudinal algo oblicuo; método de Prenant. : × 10.

Lp., lacinia pulmonar; *sp.*, vesículas con espermatogonias; *spt.*, zona de vesículas con espermátidas; *spt'.*, zona de evolución de las espermátidas; *spz.*, zona de formación de espermatozoides; *gl.*, región glandular, de la cual no se ve más que el principio.

Fig. 10.—Parte posterior de un testículo de 15 de septiembre. Método de Prenant. Nótese la extensión de la parte glandular intermedia (*gl. in.*), pudiendo compararse con la región análoga en la fig. 6. : × 10.

Fig. 11.—Testículo de 16 de octubre; hematoxilina-eosina. : × 10.

Sp., zona de vesículas con espermatogonias; *spt.*, zona de espermátidas; *spz'.*, zona de espermatozoides en formación; *spz.*, espermatozoides completamente formados; *gl. in.*, zona glandular intermedia, por la existencia de la cual se diferencia este testiculo del de la fig. 9.

Fig. 12.—Lacinia pulmonar de un testículo de primavera; corte longitudinal; método de Achúcarro. Obj. Planar Zeiss, 20 mm. : × 50.

Fig. 13.—Lacinia pulmonar; método de Wilson. Obj. apocr. 8 mm.; oc. 4. : × 300.

Ni., nido de espermatogonias primitivas *(Sp.)*; *fol.*, células foliculares; *c. d.*, canalículos deferentes unidos a los nidos.

Fig. 14.—Porción de lacinia pulmonar; método de Achúcarro. Obj. apocr. 16 mm.; oc. 4. : × 160.

Ni., nidos de espermatogonias primitivas, aisladas por el tejido conjuntivo *cn.* (en negro); *cd.*, canalículo deferente unido a un nido; *c. d.*, canalículo de mayor diámetro que emite ramificaciones a varios nidos.

Fig. 15.—Nido de espermatogonias primitivas, de la lacinia pulmonar. Fijación en sublimado-formol-acético; mezcla tricrómica. Obj. 2 mm.; oc. 12. : × 1.600.

Sp., espermatogonias; *fol.*, células foliculares; *N. cn.*, núcleos de tejido conjuntivo.

Fig. 16.—Folículos con espermatozoides en formación. Zenker, método de Prenant. Obj. 2 mm.; oc. 8. : × 1.060.

Spz., espermatozoides; *c. spz.*, colas de los mismos entre las cuales se encuentran numerosos granos de protagón (en negro); *fol.*, núcleos de las células foliculares; *con.*, tejido conjuntivo formando la pared de la vesícula *(P. v.)* con sus núcleos, (*N. cn.*); *N. K.*, *Nebenkern* en las células foliculares centrales.

Fig. 17.—Primera región de un testículo de invierno; vesículas con espermatogonias de primer orden. Hematoxilina de hierro-naranja G. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 300.

Fig. 18.—Primera región de un testículo de primavera; vesícula con espermatogonias de segundo orden. Verde luz-hematoxilina de hierro. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 300.

Rsp., espermatogonia residual de una vesícula vecina. Todas las espermatogonias de uno de los folículos se encuentran en carioquinesis.

Fig. 19.—Primera región de un testículo de principio de verano; vesículas con espermatocitos (las de una de ellas se encuentran en la fase de máxima contracción nuclear, apareciendo los núcleos como masas sin estructura); hematoxilina de hierro-azul de Lyon. Obj. 16 mm.; oc. 4. : × 140.

cd., calículo deferente; *Rsp.*, espermatogonias residuales.

Fig. 20.—Vesículas de espermátidas transformándose en espermatozoides, en la parte posterior de la primera región de un testículo de verano; método de Prenant. Obj. 16 mm.; oc. 4. : × 140.

Fol. cen., células foliculares centrales con el protoplasma muy abundante; *Rsp.*, espermatogonias residuales; *cd.*, canalículos deferentes que comunican con las vesículas.

Fig. 21.—Zona glandular intermedia de un testículo del mes de septiembre. Formación progresiva del tejido glandular. Método de Prenant. Obj. 16 mm.; oc. 4. : × 85.

Fig. 22 (1).—Zona glandular intermedia. Vesículas con las paredes formadas por varias capas de células; en una de ellas se ve la comunicación con el canalículo deferente, que todavía se conserva, y un par de espermatogonias residuales *(Rsp.)*. Los capilares (marcados +), penetran en la pared de las vesículas, desorganizándola. Hematoxilina de hierro-naranja; Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 300.

Fig. 23.—Zona glandular intermedia de un testículo de abril. Expulsión de los espermatozoides y principio de la formación de la glándula. Hematoxilina de hierro-naranja. Obj. 16 mm.; oc. 4. : × 110.

Spz., espermatozoides revueltos en el interior de las vesículas; *fol.*; células foliculares que se conservan aun después de expulsados aquéllos, *cd.*, canalículo deferente; *c. gl.*, células de la pared de la vesícula poseyendo ya el carácter de células glandulares; *Rsp.*, espermatogonias residuales; *cn.*, tejido conjuntivo entre las vesículas.

Fig. 24.—Zona glandular intermedia; vesícula conteniendo todavía espermatozoides, pero con las paredes engrosadas. Han desaparecido los folículos. Hematoxilina de hierro-naranja. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 300.

Spz., espermatozoides revueltos; *c. gl.*, células glandulares separadas de las foliculares, por la antigua pared propia de la vesícula *(P. p.)*; *c. fol.*, células foliculares dispuestas sobre la pared de la vesícula.

Fig. 25.—Estado más avanzado que la figura anterior. Las vesículas, con las paredes más engrosadas, ya sólo contienen algunas células foliculares muy degeneradas.

Fig. 26.—Región de la glándula ya completamente formada. Disposición de las células en lobulillos aislados por conjuntivo. Método de Prenant. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 200.

Fig. 27.—Región de la glándula completamente formada. Distribución de los capilares sanguíneos, que destacan en negro por estar los glóbulos rojos de que están repletos, intensamente coloreados. Verde luz-hematoxilina de hierro. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 200.

Fig. 28.—Región posterior de la glándula. Nidos de espermatogonias residuales muy abundantes entre las células glandulares. Hematoxilina de hierro-naranja G. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 200.

Ni., nidos de espermatogonias *(Sp.)*; *cgl.*, células glandulares.

Fig. 29.—Lacinia caudal. Tejido conjuntivo en negro; los nidos de es-

(1) La fase representada en esta figura es posterior a la de las figuras 23, 24 y 25.

permatogonias residuales destacan en blanco. Método de ACHÚCARRO, Obj. Planar; 20 mm. : × 30.

FIG. 30.—Región glandular intermedia. Distribución del tejido conjuntivo fibrilar. Método de ACHÚCARRO. Obj. 16 mm.; oc. 4. : × 80.

P. p., sistema interno de fibras conjuntivas (antigua pared propia); *cn. in.*, sistema interno o intervesicular; *ov.*, célula que ha sufrido la degeneración oviforme.

FIG. 31.—Región glandular intermedia; fase un poco más avanzada que en la figura anterior. Método de ACHÚCARRO. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 175.

Nótese la distribución de las fibrillas intercelulares que van del sistema interno *(P. p.)* al sistema intervesicular *(cn. in.)* de fibras colágenas.

FIG. 32.—Glándula completamente formada. Método de ACHÚCARRO. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 170.

cd., canalículo deferente con cubierta de fibras gruesas; *Rsp.*, espermatogonia residual o de regeneración.

FIG. 33.—Glándula completamente formada. Tejido conjuntivo. Método de ACHÚCARRO. Obj. 8 mm.; oc. 4. : × 170.

Nótese la distribución de las fibras alrededor de los lobulillos de células y de los canalículos deferentes *(cd.)*.



127